LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUM LEBENSZYKLUS VON SARCOCYSTIS MURIS (SPOROZOA, COCCIDIA) IN DER KATZE

Michael Hellwig

1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546803_0019

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin
und Parasitologie der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. J. Boch

LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUM LEBENSZYKLUS VON SARCOCYSTIS MURIS (SPOROZOA, COCCIDIA) IN DER KATZE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Michael Hellwig
aus
Dachau

München 1981

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät

der Universität München

Dekan : Prof. Dr. J. von Sandersleben

Referent : Prof. Dr. Dr.h.c. J. Boch

Korreferent : Prof. Dr. E. Dahme

Tag der Promotion: 27. Februar 1981

UNIV. LEIDEN BIBL.

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

INHALTSÜBERSICHT

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Die Entwicklung der Sarkosporidien im Endwirt (anhand der Literatur)	2
III.	Eigene Untersuchungen	15
	A. Material und Methodik	15
	B. Ergebnisse	17
	1. Lichtmikroskopische Untersuchungen..	17
	2. Elektronenmikroskopische Untersuchungen	22
	a. Gamonten	22
	b. Zygoten und Oozysten	38
IV.	Besprechung der Ergebnisse	43
V.	Zusammenfassung	55
	Summary	56
VI.	Literaturverzeichnis	57
	Lebenslauf	

I. Einleitung

Unsere Kenntnisse zur Biologie und Morphologie der Sarkosporidien haben in den letzten Jahren wesentlich zugenommen. Die jetzt intensiver durchgeführten Forschungsarbeiten auf diesem Gebiet der Protozoologie konzentrierten sich allerdings hauptsächlich auf die Entwicklung des Parasiten im Zwischenwirt. So wurden die Vorgänge der ungeschlechtlichen Vermehrung (Schizogonie und Endodyogenien) in den verschiedensten Organen sowohl in ihren zeitlichen Abläufen als auch in ihrer Morphologie dargestellt. Mit der Ultrastruktur der Zystenwände war auch eine differenzierte Speziesunterscheidung möglich geworden.

Zur geschlechtlichen Entwicklung der Sarkosporidien in den Endwirten liegen wesentlich weniger Untersuchungen vor. Genaue zeitliche Abläufe sowie die exakte Morphologie der einzelnen Entwicklungsstadien fehlen.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, an Sarcocystis muris, für die die Hauskatze Endwirt ist, den zeitlichen Ablauf der geschlechtlichen Vermehrung des Parasiten und den Ort seiner Entwicklung zu klären. Die Ultrahistologie der einzelnen Entwicklungsstadien sollte Aufschluß über die Morphologie geben, sowie die wichtigen Vorgänge der Befruchtung und der Zygotenbildung darstellen.

II. Die Entwicklung der Sarkosporidien im Endwirt

(anhand der Literatur)

Der Lebenszyklus von Sarcocystis muris wurde von RUIZ und FRENKEL (1976) aufgeklärt. In der Katze dringen die bananenförmigen Merozoiten durch die Becherzellen in die Dünndarmwand ein und runden sich ab. 12 Stunden p.i. treten Makro- und Mikrogameten auf; in der Lamina propria finden sich schon 24 Stunden p.i. Zygoten, die sich 48 Stunden p.i. als Oozysten darstellen. 72 Stunden p.i. enthalten die Oozysten 2 Sporoblasten. Nach 5 bis 6 Tagen sind die beiden Sporoblasten sporuliert und werden 8 bis 11 Tage nach der Infektion meist als einzelne Sporozysten freigesetzt. Sie sind circa 8,5 x 10,3 µm groß und enthalten vier 2 x 10 µm große Sporozoiten.

FAYER (1970) sowie VETTERLING, PACHECO und FAYER (1973) beschreiben die sexuelle Entwicklung von Sarkosporidien in der Zellkultur. Sie beimpften 6 Vogel- und Säugerzellinien mit beweglichen bananenförmigen Zystozoiten aus Muskelzysten einer Star-Spezies (Quiscalus quiscula). Bis zu 5 dieser Zoiten drangen in eine Wirtszelle ein, in der sie oft in der Nähe des Zellkernes liegen. Die intrazellulären Formen verkürzten sich, waren 24 Stunden p.i. ellipsoid und 30 Stunden p.i. fast rund. Die ellipsoiden Stadien enthielten viele kleine zytoplasmatische Granula. 30 und 48 Stunden p.i. wurden Kernteilungen und mehrkernige Formen beobachtet. 72 Stunden p.i. umgab die Organismen eine dicke Wand; manche enthielten 2 Einschlüsse.

In weiteren Untersuchungen erkannte FAYER (1972) die vorher beschriebenen mehrkernigen Stadien als Mikrogamonten und die ellipsoiden Körper als Makrogamonten. In den Mikrogamonten lagen die Mikrogameten an der Peripherie des Zytoplasmas. Freie Mikrogameten beschreibt er als kommaförmig und mit 2 Geißeln ausgestattet. 48 Stunden p.i. tauchten nur noch ovoide, dickwandige Parasitenformen auf, die er für Äquivalente zu den Oozysten bei den Kokzidien hielt. Eine Sporulation trat jedoch nicht ein.

Die Ultrastruktur dieser Formen untersuchten VETTERLING, PACHECO und FAYER (1973). Die von einer Doppelmembran umgebenen extrazellulären Zoiten besaßen Conoid, Polring, Rhoptrien, Mikronemen, ER (endoplasmatisches Retikulum), einen Golgiapparat, Mitochondrien vom tubulären Typ, einen Zellkern, Polysaccharid-Granula, eine Mikropore und freie Ribosomen. Intrazelluläre Zoiten lagen in einer parasitophoren Vakuole. Mikronemen wurden nicht beobachtet. Bei den Trophozoiten genannten, 12 Stunden p.i. gefundenen Formen fehlten zudem das Conoid und die Mikropore. Kern und Nukleolus waren vergrößert.

Der Kern der jungen, ellipsoiden Mikrogamonten hat 2 bis 4 Vorwölbungen und scheint sich zu teilen. Dichtes Kernchromatin findet sich in der Peripherie. Unter der Hülle des Mikrogamonten treten an den Kernprojektionen dichte Platten auf, die Mikrotubuli enthalten. Zwischen Hülle und Kern liegen später 1 oder 2 Basalkörper mit 9 Tripletts, von denen Geißeln ausgehen. Fast reife Mikro-

gameten treten, über eine Art Stiel mit dem Mikrogamonten verbunden, in die parasitophore Vakuole vor. Ein Teil des Kernes bleibt im Mikrogamonten zurück, während sich der chromatinhaltige im Mikrogameten befindet. Die reifen Mirkogameten sind kommaförmig und 3 µm lang. Sie besitzen einen dichten Kern, ein Mitochondrium, 2 Geißeln und sind von einer einfachen Membran bedeckt. Eine dichte Platte vor dem Basalkörper scheint das Perforatorium zu bilden.

Junge Makrogameten, die in einer 2-schichtigen parasitophoren Vakuole liegen, haben einen großen Kern mit randständigem Chromatin und einem exzentrischen Nukleolus. Im Zytoplasma finden sich konzentrische Reihen von ER und dichte Granula von verschiedener Größe und Homogenität. Zudem treten Vakuolen, Polysaccharid-Granula, ein Mitochondrium und freie Ribosomen auf. Im Gegensatz zum jungen Makrogameten, der nur eine Membran mit darunterliegenden Segmenten besitzt, weist der reife Makrogamet 2 Membranen auf.

Bei Stadien, die Oozysten ähneln, finden sich die oben erwähnten, dichten Granula in kleinere Granula zerbrochen. Unter der Hülle scheinen die kleinen Granula zu einem Band zu verschmelzen, das als Schicht 1 bezeichnet wird. 6 darunter liegende Membranen werden als Schicht 2 bis 7 benannt. Die Autoren nehmen an, daß Vesikel an der Membranbildung beteiligt sind. Die Schichten 1, 2 und 3 verschmelzen zum äußeren Teil der Oozystenwand, Schicht 4 bildet den inneren Teil. Die ganze Wand ist 60 bis 70 nm dick. Schicht 5 bleibt als lose Membran über der Zytoplasmahülle (Schicht 6 und 7) liegen.

Die Oozyste ist 6 x 6,5 µm groß, enthält viele Vakuolen, zahlreiche Mitochondrien, ER, Ribosomen und einen Kern mit Nukleolus.

MEHLHORN und HEYDORN (1979) studierten mit Hilfe der Elektronenmikroskopie die Gamogonie von Sarcocystis suihominis in menschlichen Zellkulturen. 6 Stunden p.i. waren die eingedrungenen 8 µm großen Parasiten von einer parasitophoren Vakuole umgeben, die von 2 Membranen begrenzt wird. Mikronemen und Conoid stellten sich noch dar. Der Kern war vergrößert, das Chromatin stellenweise verdichtet.

Nach 12 Stunden traten 6 x 8 µm große Mikrogamonten auf. Der Kern mit seinen Chromatinverdichtungen erstreckte sich über den ganzen Mikrogamonten und wölbte sich einige Male vor. Tubuläre Mitochondrien, ER, Polysaccharid-Grana, Vesikel mit granulärem Material und freie Ribosomen lagen im Zytoplasma.

Die Mikrogametenentwicklung beginnt mit der Bildung von Basalkörpern, die aus 2 inneren Mikrotubuli und 9 Tripletts bestehen. Von diesen Basalkörpern gehen dann die nach dem 9 und 2-Muster aufgebauten Axonemen aus, welche später die Flagellen der Mikrogameten bilden. Der Mikrogametenkern ist anfangs noch über eine Brücke mit dem elektronenlichten, großen Kern verbunden. Bedeckt werden die Mikrogameten von einer einzigen Membran. Einige besitzen 3 Geißeln, von denen eine über eine kurze Strecke mit dem Mikrogameten verbunden und oft inkomplett ist. Das Mitochondrium liegt in einer Vertiefung des Kernes.

Am apikalen Pol befindet sich das Perforatorium. Reife, bis 8 µm große Makrogamonten in einer parasitophoren Vakuole traten 12 Stunden p.i. auf. Sie besitzen 2 Membranen, einige Mikroporen, relativ viele Polysaccharid-Granula und 2 Typen von Einschlüssen.

Schon 18 Stunden p.i. sahen die Autoren in den meisten Formen Oozysten von 8 µm Durchmesser. Ihre Wand besteht aus einer äußeren Schicht und 4 darunter liegenden Membranen. Das Zytoplasma, das noch Hüllbildungskörper, Vakuolen, Mitochondrien, Polysaccharid-Granula und einen großen Kern enthält, wird von 2 weiteren Membranen bedeckt. Ab 22 Stunden p.i. scheint die Sporulation einzusetzen. Sie wird jedoch im Zellkultursystem unter den gegebenen Bedingungen nicht vollendet.

Weitere Untersuchungen von BECKER, MEHLHORN und HEYDORN (1979) an 5 Sarcocystis-Spezies in Zellkulturen und 2 Sarcocystis-Arten im Endwirt brachten ähnliche Ergebnisse. Die Parasiten verloren nach dem Eindringen in die Wirtszelle die Charakteristika der Merozoiten, also Conoid, Mikronemen, Rhoptrien, subpellikuläre Mikrotubuli und die innere der 3 Hüllschichten.

Der Kern des Mikrogamonten erstreckt sich über den ganzen Zelleib und es bilden sich Vorwölbungen, in denen sich das Chromatin verdichtet. 12 Stunden p.i. traten auch Makrogamonten auf.

Oozysten erschienen 22 Stunden p.i.. Auch bei diesen Arten fand die Sporulation nur im natürlichen Wirt statt. Die Sporozystenwand besteht aus einer dickeren inneren

und einer dünneren äußeren Schicht, wobei die innere einige Bruchstellen aufweist.

In der Ratte und in der als Endwirt fungierenden Netzpython erforschten ZAMAN und COLLEY (1975) den Lebenszyklus von Sarcocystis orientalis, jetzt als Sarcocystis singaporensis (ZAMAN und COLLEY, 1976) bezeichnet. Die Parasiten kamen im ganzen Dünndarm vor, am zahlreichsten jedoch im Duodenum der Schlange. Auch BREHM (1979) befaßte sich mit der Entwicklung dieser Sarkosporidienart. Die Mikrogamonten liegen in einer parasitophoren Vakuole. Sie sind rund, 6 bis 8 µm groß und haben bis zu 18 Kerne. Die Mikrogameten messen circa 5 x 0,5 µm und besitzen 2 Geißeln. Junge Makrogamonten haben längliche Gestalt, runden sich später ab und sind 5 bis 10 µm groß. Reife Makrogameten verfügen über Vakuolen im Zytoplasma und dichte Granula in der Peripherie. Die Oozystenwand um die beiden Sporozysten besteht aus einer farblosen Hülle. Die Oozysten messen 15,4 x 11,2 µm im Durchschnitt. Die Sporozysten besitzen keinen Stiedakörper und sind circa 9,1 x 7,7 µm groß. Gamonten und Oozysten liegen ausschließlich in den Darmepithelzellen.

Bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen von S. singaporensis stellten ZAMAN und COLLEY (1975) fest, daß die jungen Mikrogamonten in der Peripherie Polysaccharid-Granula enthalten. Mitochondrien und kleine Vesikel kommen im ganzen Zytoplasma vor. Die Kerne weisen randständige Chromatinverdichtungen auf; einige teilen sich. Nahe der Pellikula sind die Kerne oft mit länglichen Mitochondrien assoziiert, manchmal liegt zwischen Kern und Hülle auch ein Basalkörper. Das Plasmalemm, im Be-

reich der sich in die parasitophore Vakuole vorwölbenden Kerne, erfährt eine beidseitige Verdickung. In der parasitophoren Vakuole finden sich Geißeln, die nach dem typischen 9 und 2-Muster aufgebaut sind. Neben den Polysaccharid-Granula treten jetzt auch große Vakuolen auf. Reife Mikrogameten haben einen dichten, länglichen Kern und 2 Geißeln. Das Zytoplasma, das im Mikrogamonten zurückbleibt, enthält Polysaccharid-Granula, ER und Kernreste. Die Makrogamonten verfügen über einen großen Kern mit einem deutlichen Nukleolus und kleinen Chromatinklumpen. Vakuolen und Mitochondrien liegen im Zytoplasma. Die Makrogameten beinhalten als Zytoplasmabestandteile Vakuolen, Zisternen des ER und dichte Granula. Bei der Oozystenreifung wird durch Fusion von kleinen Teilen der dichten Granula eine kompakte Schicht gebildet. Es wurde auch eine Proliferation der Vakuolen und Polysaccharid-Granula beobachtet. Die Oozystenwand besteht aus 5 Schichten.

HEYDORN und ROMMEL (1972) fanden bei ihren lichtmikroskopischen Untersuchungen Entwicklungsstadien von Sarcocystis fusiformis in der Lamina propria, meist im Jejunum, gelegentlich im Ileum des Katzendarmes. 8 Stunden nach der Verfütterung sarkosporidienhaltiger Rinderschlünde waren Zystozoiten in die Darmschleimhaut eingedrungen und abgerundet. Die Autoren fanden 24 Stunden p.i. 7,9 x 5,9 µm große Makrogamonten im Giemsagefärbten Präparat. Andere 6 x 5 µm große Formen, die anstelle eines Kernes 2 bis 6 Körnchen enthalten, könnten nach Meinung der Verfasser Mikrogamonten darstellen. 2 Tage p.i. sind die Makrogamonten 10,2 x 8,3 µm groß und haben einen kompakten Kern. Am 3. Infektionstag haben die Parasiten eine dünne Hülle

und zeigen kappenartige Verdickungen. Das Plasma der Oozysten, die 4 Tage p.i. auftraten, enthält zahlreiche Granula. 5 Tage p.i. begann in den Oozysten die Sporoblastenbildung.

MARKUS, KILLICK-KENDRICK und GARNHAM (1974) beschrieben ebenfalls den Lebenszyklus von Sarcocystis fusiformis in der Katze. Als Größe der Sporozysten geben sie 12,9 x 8,7 µm an.

Auch FAYER (1974) untersuchte die Entwicklung von Sarcocystis fusiformis an experimentell infizierten Hunden. Er fand die Parasitenstadien ab dem 2. Tag p.i. in der Lamina propria direkt unter dem Epithel meist am Ende des Jejunum und am Anfang des Ileum. Makrogamonten enthielten ein homogenes, in der Peripherie blasiges Zytoplasma und eine kleine Kernzone, die später größer wurde. Ab dem 5. Tag p.i. traten am Rande der Makrogamonten PAS-positive Granula auf, die sich im weiteren Verlaufe vergrößerten und 7 Tage p.i. bei jungen Oozysten einen diffusen Ring bildeten. Vom 10. Tag p.i. an kamen ein- oder zweikernige Sporozysten in den Oozysten vor. Ab dem 13. Tag p.i. waren 4 Sporozoiten und ein granulärer Restkörper sichtbar.

MUNDAY, BARKER und RICKARD (1975) untersuchten den Darm von Hunden nach experimenteller Infektion mit einer beim Schaf vorkommenden Sarcocystisart. Sie fanden die Parasiten in der Lamina propria des ersten Drittels des Dünndarmes. Sie beschrieben die Makrogameten als bis zu 5,6 x 4,2 µm groß und mit PAS-positiven Granula.

Mikrogamonten wurden als größer und zum Teil mit hellem Zentrum und dunklen, randständigen Körpern geschildert. 4 Tage p.i. erkannten die Autoren Oozysten. Ab dem 7. Tag p.i. läuft die Sporulation ab, wobei durch Teilungen 2 Sporozysten und in diesen wiederum 4 Sporozoiten entstanden. Die 14,7 x 9,0 µm großen Sporozysten werden 15 bis 17 Tage p.i. mit den Faeces erstmals ausgeschieden.

FAYER und JOHNSON (1975) befaßten sich mit der Sarcocystis fusiformis-Infektion bei Coyoten, die in freier Wildbahn bis zu 14 % infiziert waren. Nach experimenteller Infektion begann die Ausscheidung sporulierter Sporozysten 10 oder 11 Tage p.i.; sie endete 19 oder 20 Tage p.i..

TADROS und LAARMAN (1979) untersuchten die Gamogonie von Sarcocystis cuniculi in Fibroblastenzellkulturen von Katzen. Die freigesetzten Zystozoiten bewegten sich mit ausgestülptem Conoid auf die Wirtszellen zu. Die intrazellulären Stadien lagen in einer parasitophoren Vakuole meist in der Nähe des Wirtszellkernes. 8 Stunden p.i. waren die meisten von ihnen abgerundet. Mikrogamonten unterschieden sich 12 Stunden p.i. durch ihre Bohnenform, die dunklere Färbung und die leichte Lappung des Kernmaterials von den mehr ovalen bis runden, mit großem Kern ausgestatteten Makrogamonten. Ab 14 Stunden p.i. waren mehrkernige Mikrogamonten zu erkennen. Später beinhaltete jeder Mikrogamont 16 3,5 µm lange Mikrogameten und einen Restkörper. Reife Makrogameten hatten ein schaumiges Zytoplasma.

SCHOLTYSECK und HILALI (1978) untersuchten elektronenmikroskopisch den Darm experimentell mit Sarcocystis fusiformis infizierter Katzen. Sie fanden die intrazellulären Stadien in den Epithelzellen oder unter der Epithelzellschicht. Diese Formen besitzen an beiden Polen mehr als 13 osmiophile, rhoptrienähnliche Körper. Später verschwinden die Rhoptrien und die Mikronemen. Tubuläre Mitochondrien und ER sind klar erkennbar. Die 3 Membranen, aus denen die Hülle besteht, sind intakt. Der reife Makrogamet besitzt ebenfalls eine aus 3 Membranen aufgebaute Hülle, die tiefe Invaginationen und Mikroporen aufweist. Amylopektin-Granula und Hüllbildungskörper von Typ I und II sind zahlreich. In älteren Mikrogamonten nimmt die Zahl der Kerne zu, ihre Größe jedoch ab. Die Hülle weist tiefe Fissuren auf.

SHEFFIELD und FAYER (1980) berichteten von einer Befruchtung von Sarcocystis bovicanis-Gameten im Hundedünndarm. Der Vorgang spielte sich 12 Stunden p.i. in der Lamina propria ab. Der Makrogamet ist von einer dicken, nichtmembranösen und einer membranösen Schicht, die beide als parasitophore Vakuole vom Wirt gebildet werden, umgeben. Nach innen folgt eine weitere, vom Parasiten stammende Membranschicht und die Hülle des Makrogameten. Der befruchtende Mikrogamet lag zwischen den beiden äußeren Schichten und der äußeren Membran parasitischen Ursprungs, die am Ort der Fusion eine Lücke aufweist. Der Mikrogamet, der ein Mitochondrium und einige Mikrotubuli enthält, ist von einer Membran umgeben und liegt tangential zur Oberfläche des Makrogameten. Beide Gameten sind über eine halsartige Zytoplasmabrücke miteinander verbunden. An diesem Übergang tritt ein dicker, elektronendichter Ring auf,

durch den Nukleoplasma des Mikrogameten in das Zytoplasma des Makrogameten übertritt. Auch in Makrogameten, in denen die Bildung der Oozystenwand begonnen hat, kommt Mikrogameten-Nukleoplasma vor. Es wurden jedoch keine anderen Mikrogametenstrukturen beobachtet. Bei keinem der mit Makrogameten assoziierten Mikrogameten wurden Flagellen gefunden.

MADDEN und VETTERLING (1977) zeigten die Fertilisation von Eimeria tenella im Rasterelektronenmikroskop. 2 reife Mikrogameten lagen auf dem Makrogameten, einer drang in ihn ein. Eine der beiden Geißeln und der größte Teil des Körpers befanden sich schon im Makrogameten. Die 2. Geißel lag in Windungen größtenteils außerhalb.

Die Entwicklung von Sarcocystis suicanis im Hundedünndarm beschrieb SCHÄFFLER (1979) sehr eingehend. Sie fand lichtmikroskopisch 12 bis 24 Stunden p.i. Makrogamonten, die an einem Pol eine Art Kappe aufwiesen. In feinstrukturellen Studien beschrieb sie den Makrogamonten in einer parasitophoren Vakuole liegend. Seine Pellikula setzt sich aus 3 Membranen zusammen. Im zentral gelegenen Kern befinden sich zahlreiche Heterochromatinanhäufungen. Die Mitochondrien liegen peripher, ER tritt vereinzelt auf. Der Mikrogamont, der sich lichtmikroskopisch als die oben beschriebene Kappe des Makrogamonten darstellte, lag in derselben parasitophoren Vakuole zwischen ihrem äußeren und inneren Blatt. Er ist linsenförmig und 2,4 x 1,0 µm groß. Seine Pellikula besteht aus einer Elementarmembran. Ferner verfügt er über ein tubuläres Mitochondrium, Mikrotubuli und osmiophile, gelappte Kernzonen.

Die Autorin beobachtete nie freie Mikrogamonten. Sie traf Mikrogamonten nur in oben beschriebener Pseudosyzygie mit Makrogamonten an, wobei die Gamonten lediglich durch das innere Blatt der parasitophoren Vakuole getrennt sind. Aus diesem Grunde hielt sie die geschlechtliche Entwicklung für eine Gamontogamie. Oozysten (15,4 x 13,6 µm) fand sie 6 Tage p.i.. Gleichzeitig traten schon sporulierte Oozysten auf. Die Sporozysten sind 13,6 x 9,1 µm groß und enthalten 4 Sporozoiten und einen Restkörper. Die Sporozystenhülle besteht aus 2 Schichten, deren innere in regelmäßigen Abständen Verdickungen bildet. Diese Verdickungen stellen die späteren Bruchstellen dar. Die Pellikula der Sporozoiten besteht ebenfalls aus 2 Membranen. Sie enthalten die für Kokzidien-Zoiten typischen Rhoptrien, Mikronemen, Polring und subpellikuläre Mikrotubuli.

ENTZEROTH (1980) erforschte den Lebenszyklus von einer Sarcocystis-Spezies, für die das Reh Zwischen- und der Hund Endwirt sind. Auch er fand die Parasiten unter der Darmepithelschicht in der Lamina propria. Der weibliche Gamont mit großem, zentral gelegenem Kern besitzt erst 3, später 5 Membranen. In seiner parasitophoren Vakuole beobachtete der Autor einen membranbegrenzten 2,5 x 0,5 µm großen Zytoplasmabezirk, der mit tubulären Mitochondrien, 4 Mikrotubuli und einer stark osmiophilen Zone ausgestattet ist. Auch eine Verbindung zwischen Zytoplasmateil und Gamontenzytoplasma war nachweisbar. Durch eine Öffnung in der Gamontenbegrenzung, die hier 2 keilförmige osmiophile Strukturen aufweist, erstreckt sich granuläres, osmiophiles Material des Zytoplasmateiles in das Gamontenplasma. In einen Spaltraum zwischen die Parasitenmembra-

nen M_2 und M_{3-5} wandern osmiophile Grana und Vesikel ein und bilden eine granuläre Zone, die sich verdichtet. Hüllbildungskörper beobachtete der Autor nicht.

Die Oozysten verfügen über eine homogene Wand. Außerhalb und innerhalb der Wand befindet sich jeweils eine Membran. Nach außen ist die Oozyste von einem Plasmalemm begrenzt. Im Plasma der Oozyste finden sich vakuolenähnliche Einschlußkörper, Mitochondrien, Amylopektin und ein zentraler Kern mit deutlichem Nukleolus.

MEHLHORN und SCHOLTYSECK (1974) beschrieben die Entwicklungsstadien von Sarcocystis tenella im Katzendarm. Oozysten fanden sie unter der Epithelzellschicht besonders des hinteren Dünndarmes. Sporozysten traten 11 bis 12 Tage p.i. in den Faeces auf. Die unsporulierte Oozyste ist von einer 0,25 µm starken, elektronenlichten Hülle umgeben, die innen verdichtet ist. Das Zytoplasma wird von einer Elementarmembran begrenzt. Der große Kern liegt meist am Rand. Osmiophile und elektronenlichte Grana füllen die Oozyste fast ganz aus. Eine Art kristalloider Körper befindet sich in Kernnähe. Unter der Membran des Zytoplasmas liegen osmiophile Einschlußkörper.

III. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methodik

Als Versuchstiere verwendete ich 8 unter 6 Monate alte Katzen institutseigener Zucht. Sie wurden einzeln in Edelstahlkäfigen mit Gitterrosten gehalten und erhielten handelsübliches pasteurisiertes Fertigfutter (Kitekat^{R}, Effem) sowie Wasser ad libitum. Vor Versuchsbeginn erfolgte eine zweimalige Entwurmung im Abstand von 10 Tagen mit Banminth-Paste^{R} (Pfizer) für Katzen, gefolgt von einer Vakzination gegen Panleukopenie mit Felidovac^{R} (Hoechst).

Um die Katzen kokzidienfrei zu halten, kamen folgende prophylaktische Maßnahmen zur Anwendung:
Abflammen der vorgereinigten Metallkäfige;
Madribon^{R}-Prophylaxe (GASS, 1972): täglich 1 x 50 mg/kg Kgw Madribon-Tropfen (Sulfadimethoxin, Roche) 5 Tage lang, nach 5-tägiger Pause Wiederholung der Behandlung;
koproskopische Kontrolle der Tiere nach Anreicherung mit der ZnCl-NaCl-Flotationsmethode.

Als Infektionsmaterial diente die Skelettmuskulatur von Mäusen, die mindestens 76 Tage vorher mit Sarcocystis muris-Sporozysten oral infiziert worden waren. Die makroskopisch erkennbare, helle Streifung der Muskulatur war auf den sehr starken Befall mit Sarcocystis-Muskelzysten zurückzuführen. Die endgültige Diagnose stellten wir mit dem Lichtmikroskop. 10 Tage nach der letzten Madribonbehandlung wurde jede Katze per os mit zystenhaltiger Muskulatur einmal infiziert.

Je eine infizierte Katze schläferten wir 6, 10, 12, 18, und 24 Stunden p.i. sowie 2, 3 und 12 Tage p.i. mit einer Überdosis Pentobarbital-Natrium (Narcoren^{R}, Iffa-Merieux) ein, um die verschiedenen Entwicklungsstadien zu erfassen.

Nach Entnahme des gesamten Darmtraktes sowie nachfolgender Spülung mit Ringer-Lösung fertigten wir von allen Darmabschnitten Mukosaabstriche an und färbten diese nach Giemsa. Die Auswertung der Präparate beziehungsweise von Nativproben fand im Lichtmikroskop statt.

Ein Teil der 3-Tage p.i.-Präparate wurde einer Ultraschallbehandlung unterworfen, um die Oozystenhülle für die elektronenmikroskopische Präparation durchgängig zu machen.

Zur Durchführung der Elektronenmikroskopie fixierten wir lichtmikroskopisch positive Mukosaproben in 2,5 %igem Glutaraldehyd in 0,1 M Cacodylatpuffer (pH 7,2) für 4 Stunden bei 4 ^{o} C. Nach anschließendem 4-maligen Waschen in demselben Puffer erfolgte die Nachfixierung in 2 %igem Osmiumtetroxid für 1 Stunde bei 4 ^{o} C. Vor der Dehydrierung in aufsteigender Alkoholreihe wurde abermals gewaschen. Im 70 %igen Alkohol fand gleichzeitig eine Zwischenkontrastrierung am Block mit 1 %igem Uranylacetat statt. Als Intermedium diente Propylenoxid. Zur Einbettung verwendeten wir Durcupan ACM^{R} (Fluka). Die Polimerisationszeit betrug 48 Stunden bei 60 ^{o} C.

Semi- und Ultradünnschnitte wurden auf einem Ultrotome III (LKB) und einem Serval MT I hergestellt. Die Semidünn-

schnitte färbten wir mit Methylenblau und Safranin O. Zur Auswertung diente ein Dialux-Lichtmikroskop (Leitz). Die Ultradünnschnitte wurden auf Formvar^{R}-befilmte Kupfernetze aufgezogen und mit Uranylacetat und Bleicitrat (REYNOLDS, 1963) nachkonstrastiert. Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung stand ein Siemens Elmiskop 101 zur Verfügung.

B. Ergebnisse

1. Lichtmikroskopische Untersuchungen

Freie Zystozoiten waren im 6- und auch im 10-Stunden-Präparat anzutreffen (Abb. 1). Sie besitzen bananenförmige Gestalt und eine durchschnittliche Größe von 13,2 x 3,5 µm. Im Giemsapräparat hebt sich der grob granulierte, rote Kern deutlich von dem blau angefärbten Zytoplasma ab. Häufig stellen sich nicht angefärbte Zytoplasmaeinschlüsse dar.

Die intrazellulären Stadien (Abb 2) verlieren die gestreckte Form und nehmen ellipsoide bis runde Gestalt an. Zytoplasma und Kern weisen nun lockere Struktur auf. Der Parasit erscheint dadurch vergrößert.

Schon 10 Stunden p.i. treten die ersten Mikrogamonten auf; 12 Stunden p.i. finden sie sich jedoch zahlreicher. Junge Mikrogamonten (Abb. 3, MIG) sind rund und circa 12,1 µm groß. Sie verfügen im Giemsapräparat über ein hellblaues Zytoplasma, das 4 bis 13 rote, unregelmäßige Kerne (N) von durchschnittlich 1,2 µm Größe enthält.

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen:

A	:	Polysaccharid-Grana
AX	:	Axonemen
B	:	Basalkörper
BZ	:	Becherzelle
C	:	Conoid
DRH	:	Ductuli der Rhoptrien
ER	:	Endoplasmatisches Retikulum
F	:	Geißel
GS	:	Zystengrundsubstanz
HCN	:	Wirtszellkern
IM	:	Innere Membran
L	:	Lipid
M_{1-6}	:	Begrenzende Membranen bzw. Schichten
MAG	:	Makrogamont
MG	:	Mikrogamet
MI	:	Mitochondrium
MIG	:	Mikrogamont
MN	:	Mikronemen
MT	:	Mikrotubuli
N	:	Kern
NP	:	Kernporen
O	:	Oozysten
OM	:	Äußere Membran
P	:	Polring
PE	:	Pellikula
PR	:	Präconoidaler Ring
PV	:	Parasitophore Vakuole
RH	:	Rhoptrien
SPO	:	Sporulierende Oozyste

Reife Mikrogamonten (Abb. 4) haben eine Größe von 17,9 x 12,5 µm. Ihr Zytoplasma ist locker strukturiert. Es beinhaltet runde, nicht angefärbte 0,9 µm große Einschlüsse und kleine rote Granula. Kräftig rot gefärbte, bis 3,7 µm lange und 0,8 µm breite Körper befinden sich größtenteils an der Peripherie des Mikrogamonten. Manche liegen auch in dem umgebenden, hellen Hof. Von diesen als Mikrogameten (MG) anzusprechenden Formen kommen 8 bis 16 in einem Mikrogamonten vor. Ausdifferenzierte Mikrogameten (Abb. 5) haben spindelförmige Gestalt; sie messen 3,9 x 0,8 µm. Im Giemsapräparat erscheinen sie kräftig rot.

Makrogamonten bzw. Makrogameten wurden 10, 12 und auch noch 18 Stunden p.i. angetroffen (Abb. 6). Einige sind rund, die meisten jedoch ovoid. Ihre Größe beträgt 10,9 x 9,3 µm im Durchschnitt. Nach Giemsa-Färbung stellt sich das Zytoplasma blau dar. Der meist zentral gelegene Kern setzt sich aus roten Grana zusammen. Kleinere, rote Granula und lichte, bis 0,9 µm große Körper liegen verstreut im Zytoplasma.

Zahlreiche dieser Makrogameten weisen 12 bzw. 18 Stunden p.i. als jeweils kräftig rote Anlagerung einen Mikrogameten auf (Abb. 7, MG). Dieser befindet sich in dem nicht immer deutlich dargestellten, hellen Hof, der den Makrogameten umgibt. Der Mikrogamet sitzt immer an einem Pol des Makrogameten und hat punkt- bis kommaförmige Gestalt. Seine Größe beträgt 1,2 bis 3,4 µm. Ab 72 Stunden p.i. lassen sich die Entwicklungsformen im Giemsapräparat nicht mehr anfärben. Aus diesem Grunde werden die folgenden Stadien in Nativpräparaten beschrieben.

Entwicklungsstadien von Sarcocystis muris (lichtmikroskopisch)

Abb.1: Zystozoiten aus dem Dünndarmlumen, 6 Stunden p.i. (Giemsafärbung, Meßbalken entspricht 10 µm)

Abb.2: In Becherzellen gelegene undifferenzierte Formen (Pfeil), 6 Stunden p.i. (Semidünnschnitt, Meßbalken entspricht 20 µm)

Abb.3: Junger Mikrogamont (MIG) mit 11 Kernen, 12 Stunden p.i. (Giemsafärbung, Meßbalken entspricht 10 µm)

Abb.4: Reifer Mikrogamont mit Mikrogameten an seiner Peripherie, 12 Stunden p.i. (Giemsafärbung, Meßbalken entspricht 10 µm)

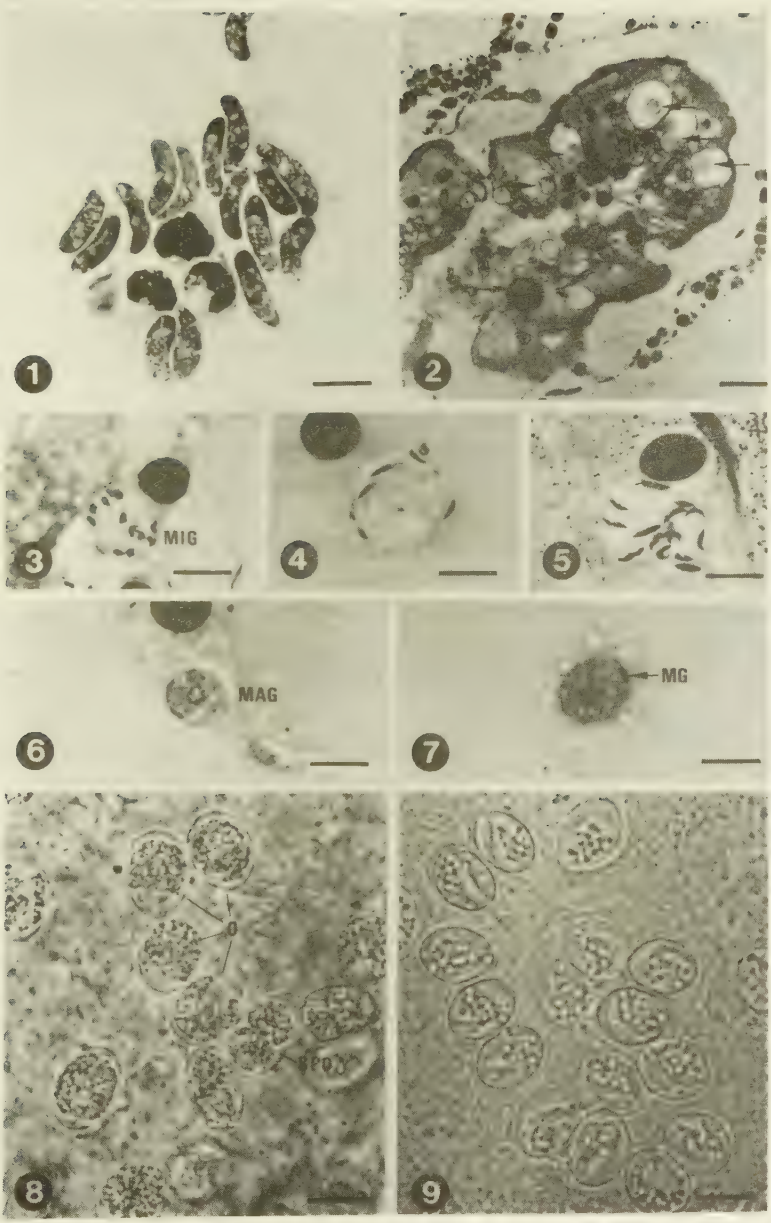
Abb.5: Ausdifferenzierte Mikrogameten nach Auflösung des Mikrogamonten, 12 Stunden p.i. (Giemsafärbung, Meßbalken entspricht 10 µm)

Abb.6: Ovoider Makrogamont (MAG) mit zentral gelegenem Kern, 12 Stunden p.i. (Giemsapräparat, Meßbalken entspricht 10 µm)

Abb.7: Makrogamet mit angelagertem Mikrogameten (MG), 18 Stunden p.i. (Giemsafärbung, Meßbalken entspricht 10 µm)

Abb.8: Unsporulierte (O) und sporulierende Oozysten (SPO), 3 Tage p.i. (Nativpräparat, Meßbalken entspricht 10 µm)

Abb.9: Sporozysten mit Sporozoiten und granuliertem Restkörper aus dem Katzendarm, 12 Tage p.i. (Nativpräparat, Meßbalken entspricht 10 µm)


1
2
MIG
3
4
5
MAG
6
MG
7
8
9

Unsporulierte Oozysten (Abb. 8, O) sind 15,2 x 10,8 µm groß. Sie verfügen über eine lichtbrechende Hülle, die das grobgranulierte Zytoplasma einschließt. Im Semidünnschnitt färben sich die groben Grana gelb an. Dies gilt als deutlicher Hinweis darauf, daß es sich hierbei um Lipid handelt.

Schon 3 Tage p.i. erscheinen die ersten sporulierenden Oozysten (Abb. 8, SPO). Ihr Zytoplasma schnürt sich in der Mitte ab. Hierdurch entstehen 2 Sporoblasten, die grobgranuliertes Material beinhalten. Diese differenzieren sich im Verlaufe der Sporulation zu 11,3 x 9,5 µm großen Sporozysten (Abb. 9), welche 4 bananenförmige Sporozoiten und einen granulierten Restkörper enthalten. Noch 12 Tage p.i. sind die beiden Sporozysten von der Oozystenhülle umgeben.

2. Elektronenmikroskopische Untersuchungen

a. Gamonten

Die noch im Darmlumen befindlichen, beweglichen Zystozoiten (Abb. 10) von Sarcocystis muris werden von einer Pellikula (PE), die sich aus 2 Schichten zusammensetzt, umschlossen (Abb. 11). Auf die äußere Membran (OM) folgt im Abstand von 22 nm der innere Membrankomplex (IM), der aus 2 Membranen besteht. Während die äußere Membran den Parasiten vollständig umgibt, ist der innere Membrankomplex am apikalen Pol unterbrochen. Hier wird durch eine osmio-

phile Verdichtung der Polring (P) gebildet. An diesen reichen auch die subpellikulären Mikrotubuli (MT). Neben dem Conoid (C) mit präconoidalem Ring (PR) vervollständigen Rhoptrien (RH) mit ihren Ausführungsgängen (DRH) und Mikronemen (MN) - allesamt stark osmiophil - den für dieses Stadium charakteristischen apikalen Komplex. Mitochondrienanschnitte (MI) vom tubulären Typ liegen oft in Kernnähe.

Der Kern (N) verfügt über einen Nukleolus. Er ist von einer aus einer Doppelmembran bestehenden Kernhülle umgeben. Kernporen (NP) und perinukleäre Zisternen sind je nach Schnittführung mehr oder weniger gut dargestellt. Im grob granulierten Zytoplasma treten zahlreiche Ribosomen und endoplasmatisches Retikulum (ER) auf. Bei den im Durchschnittt 0,45 µm großen, von einer Membran umgebenen, rundlichen Formen (Abb. 11, RH) handelt es sich um locker strukturierte, im Umbau begriffene Rhoptrien.

Ein bis 1 µm großer, meist in Kernnähe gelegener, rundlicher bis länglicher Körper, der von 2 Membranen begrenzt wird, enthält dichtes Material. Gelegentlich werden Lipideinschlüsse (L) beobachtet.

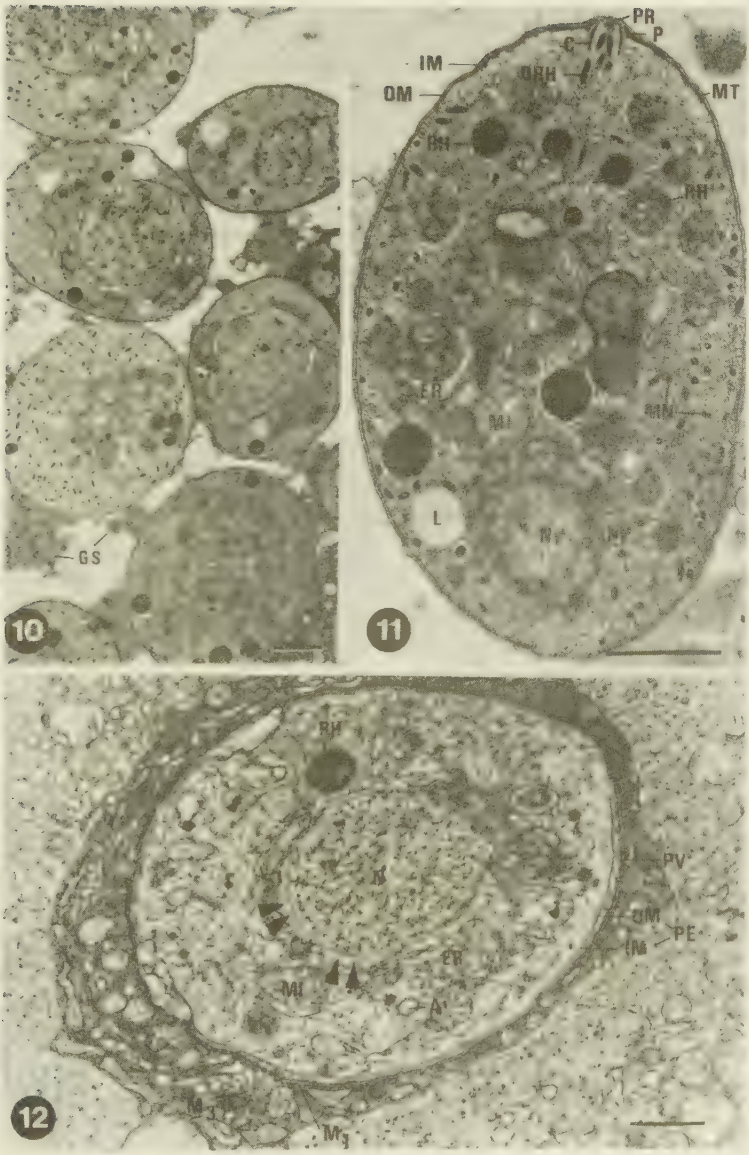
Nach dem Eindringen der infektiösen Stadien in die Becherzellen verlieren sie ihre bananenförmige Gestalt; intrazelluläre Formen stellen sich ovoid dar. Sie befinden sich meist an der Basis der Becherzellen, die charakterisiert ist durch einen gut ausgeprägten Mitochondriensaum (Abb. 12). Der Wirtszellkern liegt in unmittelbarer Nähe des Parasiten, von dem er meist auch deformiert wird (Abb. 13, HCN).

Entwicklungsstadien von Sarcocystis muris
(elektronenmikroskopisch)
Meßbalken entspricht 1 μm

Abb.10: Freie Zystozoiten mit Zystengrundsubstanz (GS) im Darmlumen, 6 Stunden p.i.

Abb.11: Zystozoit mit apikalem Komplex bestehend aus Conoid (C), präconoidalem Ring (PR), Polring (P), Rhoptrien (RH), Ausführungsgängen der Rhoptrien (DRH), Mikronemen (MN), und subpellikulären Mikrotubuli (MT), 6 Stunden p.i.

Abb.12: Undifferenzierte Übergangsform an der Basis einer quergeschnittenen Becherzelle liegend, 6 Stunden p.i.


GS
10
PR
P
C
IM
ORH
OM
MT
RH
RH
ER
MI
MN
L
N
N
11
RH
PV
OM
PE
IM
ER
MI
A
M
M
12

Eine vom ER der Wirtszelle gebildete parasitophore Vakuole (Abb. 12, PV) umschließt den Parasiten. Diese ist 20 bis 70 nm breit und wird zur Wirtszelle hin von 2 Membranen begrenzt. Die äußere Membran (Abb. 12, M_1) ist stark osmiophil und mit Ribosomen besetzt. Unter der inneren Membran (Abb. 12, M_3) liegt streckenweise granuläres Material in der parasitophoren Vakuole.

Die Pellikula (PE) des Parasiten umfaßt 2 Schichten. Während die äußere dünne Membran (OM) intakt bleibt, ist die doppelt so dicke innere (IM) an mehreren Stellen unterbrochen.

Im Zentrum des locker strukturierten Zytoplasma liegt der große, meist rundliche Kern (N). Ein Nukleolus wird gelegentlich angeschnitten. Oft ist der perinukleäre Raum der Kernhülle (Abb. 12, Pfeile) verbreitert. Dieser steht mit den sehr gut ausgeprägten Zisternen des ER, in denen sich granuläre Substanz befindet, in Verbindung. Anschnitte tubulärer Mitochondrien (MI) werden regelmäßig beobachtet.

Neben den häufig in Gruppen auftretenden Polysaccharid-Grana (A) werden seltener auch Lipideinschlüsse im Zytoplasma angetroffen. Mikronemen und Rhoptrien fehlen meist oder sind im Abbau begriffen (Abb. 12, RH). Conoid und subpellikuläre Mikrotubuli werden in diesen Stadien nicht mehr beobachtet.

Die in Becherzellen liegenden Mikrogamonten (MIG) sind von einer parasitophoren Vakuole umgeben, deren Weite unterschiedliche Dimensionen zeigt. Zu Beginn der Mikrogamontenentwicklung stehen die parasitierten Becher-

Mikrogamonten von Sarcocystis muris

Meßbalken entspricht 1 µm

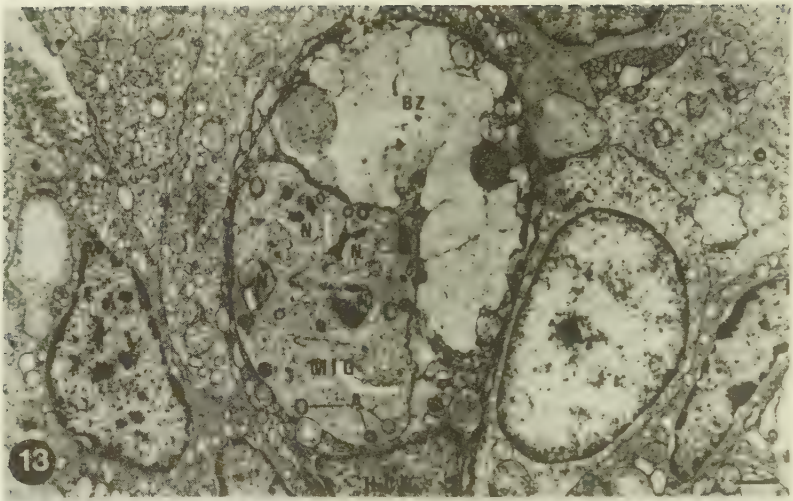
Abb.13: Mikrogamont in einer Becherzelle mit basal gelegenem Wirtszellkern (HCN), 12 Stunden p.i.

Abb.14: Ausschnitt aus einem jungen Mikrogamonten mit Kernanschnitten (N) und verdichteter innerer Membran (IM), 12 Stunden p.i.

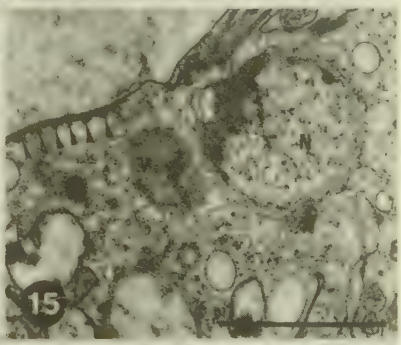
Abb.15: Ausschnitt aus einem Mikrogamonten mit unter der inneren Membran liegenden Mikrotubuli (Pfeile), 12 Stunden p.i.

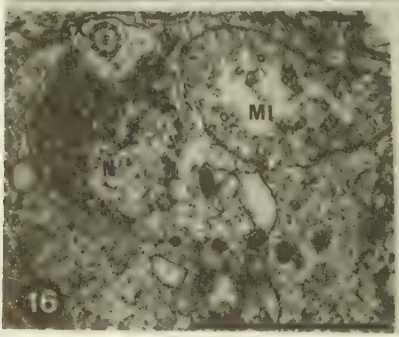
Abb.16: Ausschnitt aus einem Mikrogamonten mit Axonemen (AX) in Kernnähe (N), 12 Stunden p.i.

Abb.17: Ausschnitt aus einem Mikrogamonten mit tubulärem Mitochondrium (MI), das in einer Ausbuchtung des Kernes (N) liegt, und Geißelanschnitt (F), 12 Stunden p.i.


BZ
N
N
MIT
13

IM
N
N
14


N
15


MI
N
16

MI
N
17

zellen noch in voller Sekretion. Mit zunehmendem Alter der Parasiten wird die Sekretion eingestellt. Begrenzt wird der Mikrogamont von einer äußeren Membran (OM), der stellenweise Segmente einer zweiten (IM) unterlegt sind.

Junge Mikrogamonten sind im wesentlichen durch zahlreiche Kernanschnitte (N) morphologisch charakterisiert (Abb. 14). Auffallend sind dabei die erheblichen Chromatinverdichtungen insbesondere an der Peripherie der Kerne. Die randständigen Kerne initiieren an den in ihrer Nachbarschaft gelegenen Teilen der inneren Membran (IM) Verdichtungen. Es zeichnen sich deutlich Platten über den Kernen ab, mit einer Dicke von 17 bis 24 nm. Unter dieser verdickten inneren Membran werden in regelmäßigen Abständen angeordnete Mikrotubuli (Abb. 15, Pfeile) vorgefunden.

Längliche, tubuläre Mitochondrienanschnitte (MI) liegen in der Nähe der Kerne (Abb. 16 und 17). Polysaccharid-Grana und ER verteilen sich über das gesamte Zytoplasma.

Im weiteren Reifeverlauf der Mikrogamonten beginnen sich durch weitere Kernchromatinverdichtungen die Mikrogameten allmählich zu bilden. Die an der Gamontenperipherie liegenden Kerne (Abb. 18, N) wölben die Gamontenpellikula nach außen vor. So entsteht aus dem ursprünglich ovoiden Gebilde ein stark gelappter Parasit.

Reifere Mikrogamonten verfügen über eine große Anzahl von Polysaccharid-Grana (Abb. 19, A) und über ein gut entwickeltes ER. Bisweilen werden Lipideinschlüsse be-

Mikrogamonten von Sarcocystis muris

Meßbalken entspricht 1 μm

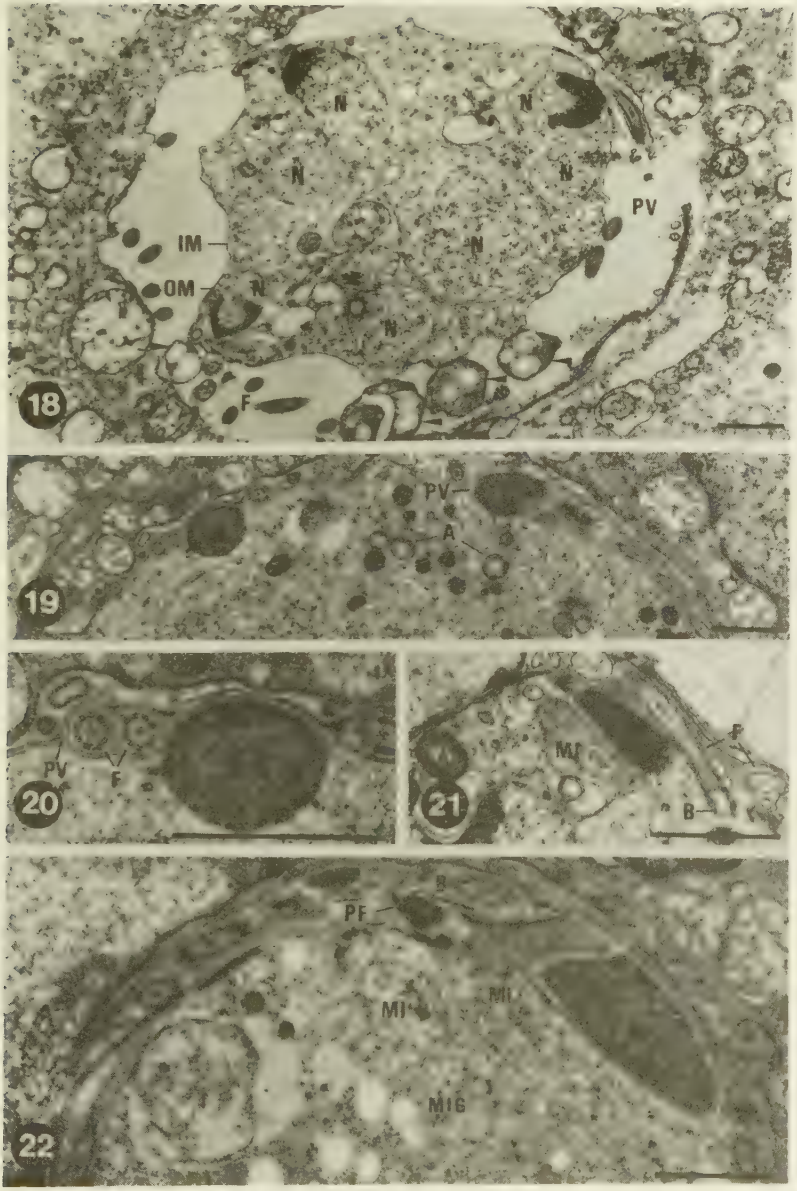
Abb.18: Übersicht über einen Mikrogamonten mit 7 Kernanschnitten (N), der in einer weiten parasitophoren Vakuole (PV) liegt, 12 Stunden p.i.

Abb.19: Ausschnitt aus einem reifen Mikrogamonten, rechts im Bild in der parasitophoren Vakuole (PV) verdichtetes Kernmaterial (N), 12 Stunden p.i.

Abb.20: Detail aus dem reifen Mikrogamonten von Abb.19 mit kompaktem, osmiophilem Kern und Geißelanschnitten (F) von Mikrogameten, 12 Stunden p.i.

Abb.21: Detail aus einem reifen Mikrogamonten mit Basalkörper (B) und Geißelanschnitten (F), 12 Stnden p.i.

Abb.22: Mikrogamet mit Kern (N), tubulärem Mitochondrium (MI), Basalplatte (B) und Perforatorium (PF) an der Peripherie eines Mikrogamonten (MIG), 12 Stunden p.i.


N
N
N
N
PV
IM
OM
N
N
F
18
PV
A
19
PV
F
20
MI
F
B
21
PF
B
MI
MI
MIG
22

obachtet. Mitochondrien (MI) liegen in Kernnähe, meist direkt in Kontakt mit den Chromatinverdichtungen (Abb. 16 und 17).

Neben zahlreichen Geißelanschnitten werden in der parasitophoren Vakuole auch noch Anschnitte von ausgestülptem Mikrogamontenmaterial angetroffen (Abb. 18, Pfeile). Die endgültige Ausbildung der Mikrogameten hat eine weitgehende Degeneration der Mikrogamontenbestandteile zur Folge. So werden gelegentlich Kernreste und aufgelöstes ER angetroffen. Die Mitochondrien hingegen bleiben noch gut erhalten sichtbar (Abb. 22, MI).

Der große Mikrogamontenkern unterliegt im Zuge der Kernsubstanzvermehrung einer starken Lappung. Das Kernchromatin wird dabei an die Peripherie der Ausbuchtungen verlagert und dort stark kondensiert. Dies wird besonders deutlich an den Stellen, die dicht unter der Parasitenmembran gelegen sind (Abb. 15 bis 18). Neben der osmiophilen Kernsubstanz wird oft ein Mitochondrium angetroffen. Bisweilen liegt dieses in einer Ausbuchtung des Kernes (Abb. 17).

Unter der Mikrogamontenhülle formt sich der homogen osmiophile Kernanteil zu einem kompakten Körper, der sich von der übrigen Kernsubstanz möglicherweise abtrennt (Abb. 19 und 20). Nahe an den Kernen, knapp unter der Pellikula, stellen sich Basalkörper (B) und Axonemen (AX) dar (Abb. 16 und 21). Die Axonemen setzen sich aus 2 durch 2 Ligamenta miteinander verbundenen, zentralen Fibrillen und 9 kreisförmig um diese angeordneten, jeweils aus 2 Subfibrillen bestehenden Fibrillen zusammen (Abb. 16). Die Geißeln, die ihren Ursprung an den Basalkörpern (Abb.

21, B) nehmen, bedeckt in der parasitophoren Vakuole eine Einheitsmembran (Abb. 20).

Das osmiophile Kernmaterial, das den Kern des späteren Mikrogameten bildet, kann jetzt ebenfalls in der parasitophoren Vakuole, von einer Membran umschlossen, gefunden werden (Abb. 19).

Neben der Ausbildung von 2 bis 3 Geißeln und dem dicht darunter liegenden Zellkern der Mikrogameten kommt es nun zum Einbau des Mitochondriums dicht unter dem Perforatorium zwischen den Geißeln. Typisch daran scheint die Morphologie zu sein; denn deutlich erkennbar verlaufen die Mitochondrien-Tubuli in mehr oder weniger parallelen Reihen dicht angeordnet (Abb. 22, MI). Über einer gut erkennbaren Basalplatte (Abb. 22, B) zeigt sich als stark osmiophiles Gebilde das Perforatorium (PF).

Die in Becherzellen liegenden Makrogamonten haben runde bis ovoide Formen (Abb. 24). Die Makrogamontenpellikula (Abb. 23, PE) besteht aus 2 Membranen, deren innere (IM) Unterbrechungen aufweist. Nach außen hin ist der Pellikula die mit granulärem Material gefüllte parasitophore Vakuole angelagert (Abb. 23 und 24, PV). Das äußere Blatt (M_1) der parasitophoren Vakuole ist mit Ribosomen besetzt und stellt sich osmiophil dar. Dem inneren Blatt (M_3) der parasitophoren Vakuole ist stellenweise eine 20 nm dicke, elektronenlichte Schicht unterlegt.

Charakteristisch ist der zentral gelegene, große Kern des Makrogamonten. Im Nukleoplasma finden sich zahlreiche kleinere Chromatinverdichtungen und ein Nukleolus. In

vielen Fällen liegt neben dem Kern ein circa 1,5 x 1 µm großer, von einer generell einschichtigen, an den Polen jedoch zweischichtigen, dicken Hülle umgebener Körper (Abb. 24, Pfeil), der kernähnliches Material enthält. In Kernnähe im Zytoplasma gelegene, osmiophile Verdichtungen (Abb. 24, ➙) werden in Makrogamonten gelegentlich angetroffen.

Zisternen des sehr gut ausgeprägten ER stehen mit dem perinukleären Raum in offener Verbindung. Sie enthalten feingranulierte Substanz und nehmen einen Großteil des Raumes um den Kern ein. Weite Spalträume des ER werden in der Peripherie des Makrogamonten beobachtet (Abb. 24). Mitochondrienanschnitte vom Tubulustyp verteilen sich über das gesamte Zytoplasma (Abb. 24, MI). Bis 0,9 µm große, elektronenlichte Lipideinschlüsse treten gelegentlich auf (Abb. 25, L). Polysaccharid-Grana finden sich oft in Gruppen (Abb. 25, A).

Wie schon bei den lichtmikroskopischen Untersuchungen erwähnt, fallen bei zahlreichen Makrogameten 12 und 18 Stunden p.i. an den Polen befindliche Anlagerungen auf. Elektronenmikroskopisch konnten diese in 12 Stunden p.i. angefertigten Präparaten nicht nachgewiesen werden. An 18 Stunden p.i. angefertigten Präparaten stellten sich jedoch typische Strukturen zwischen innerer (M_3) und äußerer (M_1) Membran der parasitophoren Vakuole (Abb. 25 bis 28) dar. Es werden regelmäßig spindelförmige, von einer eigenen, einfachen Membran umgebene Mikrogameten (MG) angetroffen; sie sind als solche auch erkenntlich an Mitochondrien vom tubulären Typ, an verdichtetem osmiophilen Material sowie an feinen mikrotubuli-ähnlichen Strukturen (Abb. 26).

Makrogamonten und Makrogameten von Sarcocystis muris

Meßbalken entspricht 1 μm

Abb.23: Aufbau von Pellikula (PE) und parasitophorer Vakuole (PV) eines jungen Makrogamonten, 12 Stunden p.i.

Abb.24: In einer Becherzelle gelegener junger Makrogamont, 12 Stunden p.i.

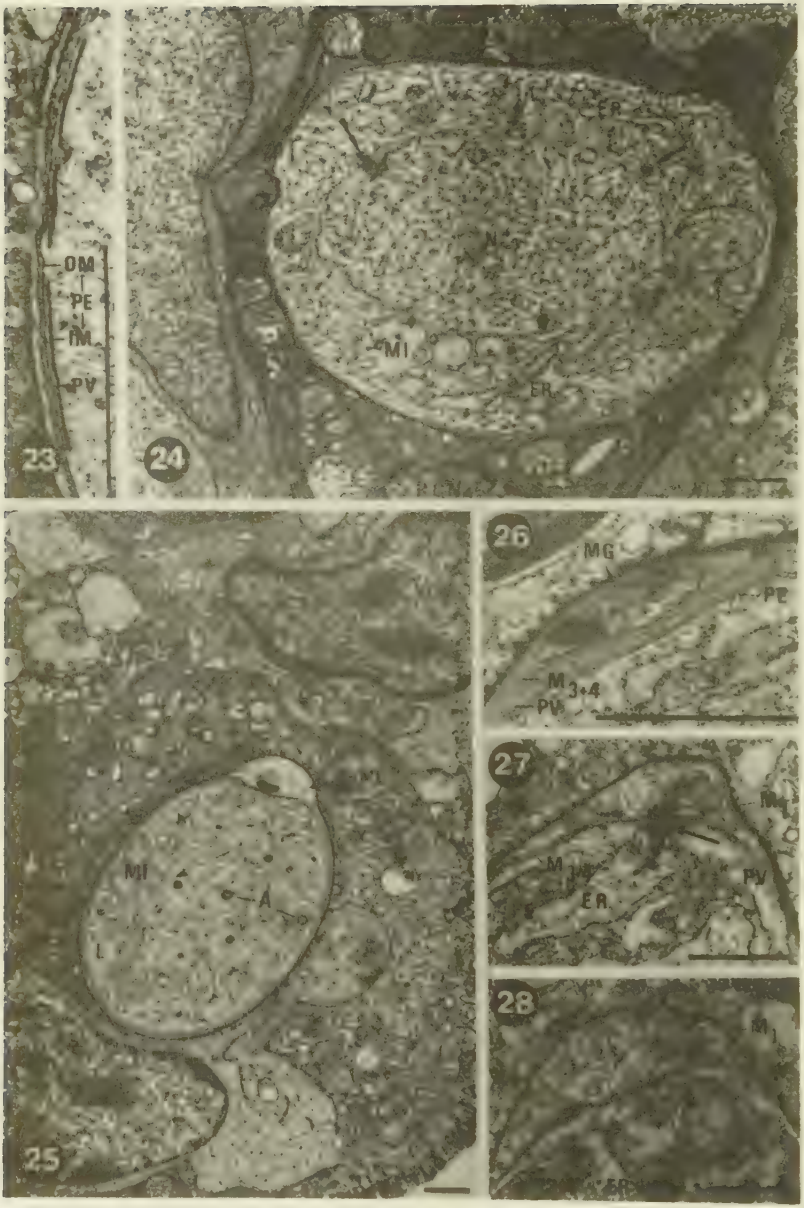
Abb.25 bis 28:
Befruchtung der Makrogameten, 18 Stunden p.i.

Abb.25: Makrogamet mit Mikrogamet (MG) als Polkappe, extrazellulär liegend

Abb. 26: Spindelförmiger Mikrogamet (MG) zwischen M_1 und M_3 der parasitophoren Vakuole des Makrogameten

Abb.27: Osmiophile Verdichtungen (Pfeil) an den Membranen während der Befruchtung

Abb.28: Weit geöffnete Makrogametenpellikula (PE, Pfeile) mit osmiophiler Verdichtung an M_4


OM
PE
IM
PV
23
ER
MI
ER
24
MI
A
L
25
26
MG
PE
M 3+4
PV
27
M 1+2
ER
PV
28
M
ER

In fortgeschrittenen Entwicklungsstadien werden von Makrogameten- und Mikrogameten-Seite weitere Verdichtungen von osmiophilem Material an gegenüberliegenden Membranflächen beobachtet (Abb. 27, Pfeil). Dabei ist zu beachten, daß besonders das Makrogameten-ER zu Dilatation neigt.

Während der Innenraum des Mikrogameten meist noch mit den geschilderten Zytoplasmabestandteilen angefüllt ist (Abb. 26), werden auch Stadien angetroffen, deren Zellbestandteile bis auf osmiophile Verdichtungen (Abb. 25) verschwunden sind, so daß ein leerer Raum entstanden ist. Ein Stadium während dieser Prophase, in deren Verlauf noch keine offene Verbindung zwischen beiden Gameten besteht, wird in Abbildung 25 dargestellt. Dabei wird deutlich, daß die Becherzelle, in der der Parasit ursprünglich lag, bereits abgebaut ist und Mikro- und Makrogamet somit jetzt extrazellulär liegen.

Ein weiteres Entwicklungsstadium des Befruchtungsvorganges zeigt Abb. 28. Während die Membran der Pellikula des Mikrogameten noch geschlossen ist, zeigt die Pellikula des Makrogameten an der Kontaktfläche zum Mikrogameten einen weiten Membrandefekt (Pfeile). An dieser Stelle treten Zytoplasmabestandteile des Makrogameten, wie ER und osmiophiles Material, bis an das bei Makrogameten zugebildete innerste Blatt (M_4) der parasitophoren Vakuole heran.

b. Zygoten und Oozysten

Während sich die Pellikula bei Makrogameten noch glatt darstellt, wird bei den Zygoten eine zunehmende Faltenbildung beobachtet. Bei manchen, nach innen gebildeten Falten fällt an deren Grund einmal ein Auseinanderweichen der Membranblätter sowie ein enges Heranreichen des ER auf (Abb. 29 und 30, Pfeile). In diesen Fällen wird in der sehr breiten parasitophoren Vakuole granuläres Material und auch rauhes ER gefunden (Abb. 29). Das ER des Parasiten zeigt teilweise kondensiertes, osmiophiles Material (Abb. 30).

Unter dem inneren Blatt (M_4) der doppelblättrigen inneren Membran der parasitophpren Vakuole verdichtet sich die granuläre Substanz (Abb. 31 und 35, Pfeile). Auch zwischen innerer (M_3) und äußerer Membran (M_1) der parasitophoren Vakuole wird ähnliches Material beobachtet (Abb. 30).

Von der später doppelblättrigen äußeren Membran der parasitophoren Vakuole stellt sich das innere Blatt (M_2) dünn und osmiophil dar. Das äußere Blatt (M_1) imponiert durch seine Dicke von bis zu 40 nm. Projektionen der elektronendichten Grundsubstanz dieser Schicht reichen bis 0,3 µm in die Umgebung hinein (Abb. 33 und 35).

In den Zygoten vergrößern sich die bei Makrogameten beschriebenen ER-Lakunen vakuolenartig unter der Pellikula (Abb. 31 und 33). Die Membran dieser unregelmäßig geformten Hohlräume, die stellenweise granuläre Substanz enthalten, ist zum Teil mit Ribosomen besetzt. Das Zytoplasma wird streckenweise zu radspeichenartig vom Kern ausgehenden, schmalen Bändern reduziert. An Zytoplasma-

Zygoten und Oozysten von Sarcocystis muris

Meßbalken entspricht 1 μm

Abb.29: Zygote mit breiter parasitophorer Vakuole (PV), in welcher granuläre Substanz und ER liegt, Pellikula in Falten (Pfeile), 18 Stunden p.i.

Abb.30: Mit granulärer Substanz gefüllter Spaltraum zwischen M_1 und M_3 einer Zygote, ER mit kondensiertem Material, Pellikula in Falten (Pfeile), 18 Stunden p.i.

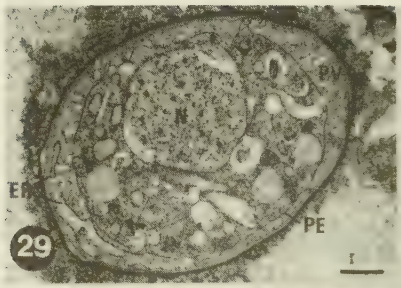
Abb.31 und 32:
Weite Lakunen des ER, Mitochondrien (MI) und Polysaccharid-Grana (A) in Zygoten mit verdichteter Hülle, 18 Stunden p.i.

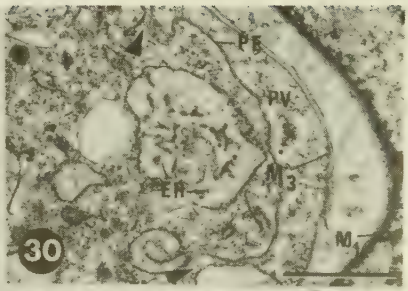
Abb.33: Zygote in fortgeschrittenem Entwicklungsstadium mit radspeichenartig von Vakuolen komprimiertem Zytoplasma, 18 Stunden p.i.

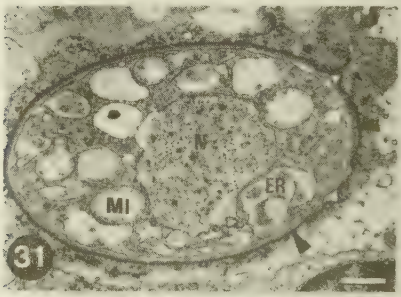
Abb.34: Oozyste mit ihren dominierenden Strukturen: Polysaccharid-Grana (A) und Lipideinschlüssen (L), 3 Tage p.i.

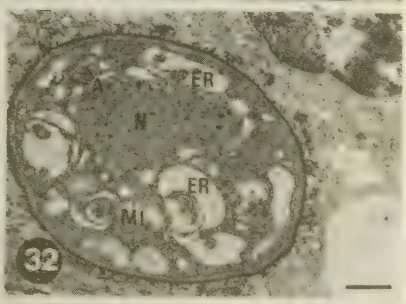
Abb.35: Hüllschichten einer Zygote:
M_{1-4} und OM und IM, verdichtetes Material (Pfeile) zwischen M_4 und OM, 18 Stunden p.i.

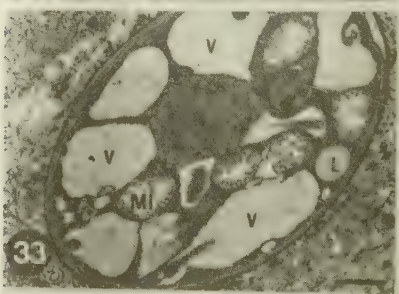
Abb.36: Hüllschichten einer Oozyste (M_{1-6}), 3 Tage p.i.

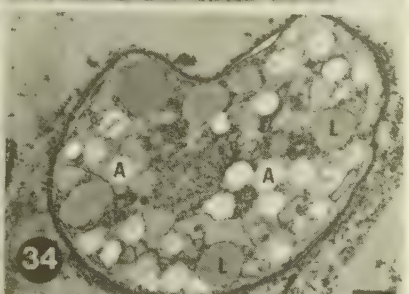

N
PV
ER
PE
29

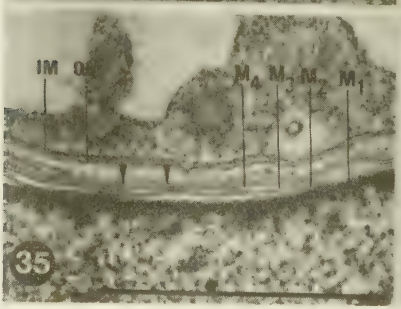

PE
PV
ER
M3
M1
30

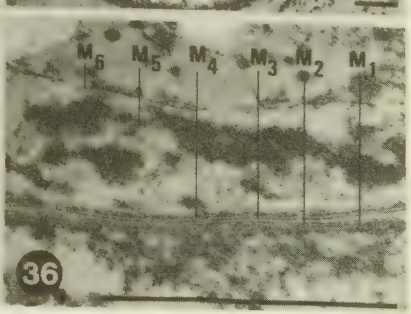

N
MI
ER
31


A
ER
N
ER
MI
32


V
V
L
MI
V
33


L
A
A
L
34


IM
M4
M3
M2
M1
35


M6
M5
M4
M3
M2
M1
36

bestandteilen treten bei diesen Stadien Mitochondrienanschnitte, Lipid und Polysaccharid-Grana (Abb. 32 und 33) auf.

Die Oozystenhülle setzt sich unter Einbezug der Membranen der parasitophoren Vakuole aus mehreren Membranblättern zusammen. Der dicken, aus osmiophilem Material bestehenden, äußeren Schicht (M_1) ist in geringem Abstand eine dünne Schicht (M_2) unterlegt. Anschließend an M_2 folgt ein Spalt von circa 20 nm Breite, der nach innen von dem schmalen Blatt M_3 begrenzt wird. M_4 stellt sich als 14 nm dicke, osmiophile Schicht dar. In stark variierendem Abstand umgibt eine sehr dünne Membran das Oozystenzytoplasma (Abb. 34 und 36, M_6). Im Raum zwischen beiden letztgenannten Schichten (M_4 und M_6) liegt eine zusammenhängende, osmiophile Verdichtungszone (M_5) unterschiedlicher Dicke, die sich stellenweise an M_4 anlegt.

In reiferen Oozysten wird gegenüber den Zygoten granuläres Zytoplasma nur noch selten beobachtet (Abb. 34). Im Durchschnitt 1,4 µm große Lipid-Einschlüsse und elektronenlichte, circa 0,74 µm große Polysaccharid-Grana stellen die dominierenden Strukturen dar (Abb. 34, L, A). Weitere Zellbestandteile sind tubuläre Mitochondrien und ein zentral gelegener Kern.

Anhand lichtmikroskopischer Untersuchungen von Mukosaabstrichen aller Darmabschnitte konnte nachgewiesen werden, daß die Entwicklung von Sarcocystis muris bevorzugt im Jejunum und im Ileum abläuft. Im Duodenum finden sich vereinzelte Parasitenstadien, im Dickdarm verlief die Suche negativ.

Durch Semidünnschnitte, die 6 Stunden p.i. angefertigt wurden, wird belegt, daß die Parasiten über die Becherzellen in die Darmwand eindringen (Abb. 2). Die in den Becherzellen befindlichen Formen liegen meist an der Basis in der Nähe des Kernes, der dabei leicht verformt wird. Die Wirtszelle bleibt jedoch in Morphologie und Funktion durch den Parasiten zunächst unbeeinflußt.

Auch Mikro- und Makrogamonten werden in den Becherzellen (Abb. 13 und 24) gefunden. Im Verlaufe der Entwicklung der Sarkosporidien grenzen sich die Wirtszellen durch die Bildung der Blätter der parasitophoren Vakuole gegen die Parasiten ab. Das ER der Wirtszelle ist an der Formation dieser maßgeblich beteiligt (Abb. 24). Bei späteren Stadien sind die Schichten der parasitophoren Vakuole verstärkt. Oft werden diese Formen extrazellulär zwischen Epithelzellen oder zwischen Epithel und Lamina propria angetroffen.

IV. Besprechung der Ergebnisse

Die Invasionsstadien (Zystozoiten) von Sarcocystis muris dringen, wie auch RUIZ und FRENKEL (1976) für diesen Parasiten angeben, über die Becherzellen in die Dünndarmwand ein. Mikro- und Makrogamonten liegen ebenfalls in diesen Zellen, während spätere Stadien extrazellulär zwischen der Lamina propria und dem Epithel angetroffen werden. Auch SCHOLTYSECK und HILALI (1978) beobachteten S. fusiformis in den Epithelzellen oder darunter. ZAMAN und COLLEY (1975) und BREHM (1979) geben ebenfalls die Epithelzellen als Ort der Entwicklung von S. singaporensis im Endwirt an. MEHLHORN und SCHOLTYSECK (1974) fanden die Oozysten von S. tenella unter der Epithelzellschicht. RUIZ und FRENKEL (1976) trafen Zygoten in der Lamina propria an. Auch HEYDORN und ROMMEL (1972), FAYER (1974), MUNDAY, BARKER und RICKARD (1975), SCHÄFFLER (1979), SHEFFIELD und FAYER (1980) und ENTZEROTH (1980) bezeichnen die Lamina propria als den Sitz von weiteren Sarkosporidienarten.

Ob der Grund für die unterschiedlichen Angaben zur Lage artspezifischer Natur ist oder präparatorisch bedingt ist, läßt sich nicht abklären.

Anhand von elektronenmikroskopischen Abbildungen wird in der vorliegenden Arbeit belegt, daß sich Mikro- und Makrogamonten von S. muris in noch intakten Becherzellen aufhalten. Auf welche Weise die späteren Stadien (Zygoten) extrazellulär gelangen, obwohl sie nicht aktiv beweglich sind, konnte nicht festgestellt werden. Wahrscheinlich gehen die befallenen Becherzellen zugrunde, was auch ENTZEROTH (1980) beobachtete. Hierauf kommen die Parasiten interzellulär an die Basalmembran zu liegen, wäh-

rend sich das Epithel wieder schließt. Daß diese Stadien noch in die Lamina propria eindringen können, ist sehr unwahrscheinlich.

Die Frage nach dem Darmabschnitt, in welchem sich die Parasiten bevorzugt aufhalten, kann durch unsere Untersuchungen dahingehend beantwortet werden, daß Jejunum und Ileum den Hauptsitz darstellen. Auch FAYER (1974) sowie HEYDORN und ROMMEL (1972) kommen zu diesem Ergebnis. MEHLHORN und SCHOLTYSECK (1974) nennen den hinteren Dünndarm, während MUNDAY, BARKER und RICKARD (1975) das erste Drittel des Dünndarmes für eine Sarcocystisart des Schafes im Hund, SCHÄFFLER (1979) Duodenum und Jejunum für S. suicanis sowie ZAMAN und COLLEY (1975) den ganzen Dünndarm für S. singaporensis als bevorzugten Sitz angeben.

Zystozoiten im Darmlumen wurden bei meinen Untersuchungen nur bis zur 10. Stunde p.i. beobachtet. Schon 6 Stunden p.i. traten intrazelluläre, abgerundete Stadien auf. RUIZ und FRENKEL (1976) fanden bei demselben Parasiten 3 und 6 Stunden p.i. die länglichen Formen, 9 Stunden p.i. die abgerundeten im Epithel. HEYDORN und ROMMEL (1972) trafen bei S. fusiformis 8 Stunden p.i. eingedrungene und abgerundete Stadien an. SCHÄFFLER (1979) wies für S. suicanis noch 12 Stunden p.i. Zystozoiten nach. In der Zellkultur fanden TADROS und LAARMAN (1979) bei S. cuniculi 8 Stunden p.i., MEHLHORN und HEYDORN (1979) bei S. suihominis 6 Stunden p.i. intrazelluläre Formen.

Die durchschnittlich 13,2 x 3,5 µm großen Zystozoiten von S. muris, für die RUIZ und FRENKEL (1976) eine Größe von 14-16 x 4-6 µm angeben, umgibt eine zweischichtige Pellikula, deren innere Schicht aus einer Doppelmembran besteht. Dieser Pellikulaaufbau wird von SCHOLTYSECK, MEHLHORN und HAMMOND (1971) für Toxoplasma gondii, von FLEISCHMANN

(1977) für Klossia helicina und auch von anderen Autoren allgemein für Sporozoa beschrieben. Der Apikalkomplex ist bei S. muris typisch ausgebildet. Die genaue Anzahl der subpellikulären Mikrotubuli war nicht festzustellen. Aufgrund des tangentialen Kernanschnittes konnten Kernporen sehr deutlich dargestellt werden.Die Bedeutung des runden, teilweise länglichen Körpers, der in Abb. 11 in der Nähe des Zystozoitenkernes gelegen ist, konnte von mir nicht ermittelt werden.

In den intrazellulären, noch nicht differenzierten Stadien von S. muris bilden sich die Organellen des Apikalkomplexes zurück. Rhoptrien stellen sich nicht mehr typisch osmiophil dar, sondern verfügen jetzt, wie auch schon in manchen freien Zystozoiten, über eine lockere Innenstruktur und verschwinden später ganz. Das Zytoplasma ist aufgelockert. Ribosomen finden sich nicht mehr so zahlreich und treten meist am gut ausgeprägten ER auf.

Der Aufbau der Hülle dieser undifferenzierten Stadien bleibt auch noch bei jungen Makrogamonten erhalten. Unter einer Einheitsmembran liegt eine mehrfach unterbrochene, osmiophile Schicht, die als Relikt der inneren Zystozoitenpellikula aufzufassen ist. Dies beschrieben auch VETTERLING, PACHECO und FAYER (1973) bei einer Sarcocystisart des Stares. MEHLHORN und HEYDORN (1979) sahen ebenfalls 2 Schichten bei S.suihominis in der Zellkultur SCHOLTYSECK und HILALI (1978) fanden allerdings für S. fusiformis 3 intakte Schichten. In der Wirtszelle werden die Parasiten von einer parasitophoren Vakuole umgeben, was auch andere Autoren für weitere Sarkosporidienarten zeigten. An der Ausbildung der Membranen der parasitoren Vakuole ist, wie aus Abb. 24 hervorgeht, das ER der Wirtszelle beteiligt.

Wie RUIZ und FRENKEL (1976) habe ich 12 Stunden p.i. Mikrogamonten von S. muris gefunden. Diese umgibt eine äußere Membran, der Segmente einer inneren unterlegt sind. Durch Lappung des Kernes entsteht aus dem ursprünglich einkernigen Mikrogamonten ein mehrkerniges Stadium. Diese Kernlappungen und das oben angegebene Membranverhalten beobachteten auch VETTERLING, PACHECO und FAYER (1973), MEHLHORN und HEYDORN (1979) sowie BECKER, MEHLHORN und HEYDORN (1979) bei anderen Sarkosporidienarten.

In einem Mikrogamonten von S. muris bilden sich bis zu 16 Kerne aus. ZAMAN und COLLEY (1975) zählten bis 18 Kerne, TADROS und LAARMAN (1980) 16, dagegen BECKER, MEHLHORN und HEYDORN (1979) sowie MEHLHORN und HEYDORN (1979) bei S. suihominis 20 - 30. Die Kerne, in denen sich das Chromatin randständig verdichtet, wurden länglich und wölbten die Pellikula des Mikrogamonten so vor, daß dieser eine unregelmäßige Gestalt annahm. Die segmentierte innere Membran erfuhr in Kernnähe eine stark osmiophile Verdichtung. Zudem traten unter ihr regelmäßig angeordnete Mikotubuli auf. Die elektronendichte Platte dient dem späteren Mikrogameten als Perforatorium. Ich kann damit die Ansicht von HAMMOND, SCHOLTYSECK und CHOBOTAR (1969) zur Mikrogametogenese von Eimeria auburnensis sowie von SPEER und DANFORTH (1976) für Eimeria magna bestätigen. Die Mikrotubuli werden wahrscheinlich in den Mikrogameten übernommen. VETTERLING, PACHECO und FAYER (1973) zeigten 4—5 Mikrotubuli an der Mikrogametenspitze, auch MEHLHORN und HEYDORN (1979) fanden Mikrotubuli. Zwischen dem verdichteten Kernmaterial und der Mikrogamontenhülle treten Axonemen und Basalkörper auf. Von letzteren nehmen die nach dem typischen 9 und 2-Muster aufgebauten Geißeln ihren Ursprung. Da meist 2 Basalkörper angetroffen werden und an

der Mikrogametenspitze oft 2 Geißeln angeschnitten sind, liegt die Vermutung nahe, daß die Mikrogameten mit je 2 Geißeln ausgestattet sind, wie es auch VETTERLING, PACHECO und FAYER (1973) in Zellkulturen beobachteten. Nicht auszuschließen ist jedoch, daß die Mikrogameten 3 Geißeln besitzen, was zum Beispiel COLLEY (1967) für Eimeria nieschulzi, SPEER und DANFORTH (1976) für Eimeria magna sowie BECKER, MEHLHORN und HEYDORN (1979) für eine Sarcocystisart der Ziege angeben.

In reifen Mikrogameten von S. muris liegen die osmiophilen Basalkörper knapp unter der elektronendichten Platte des Perforatoriums am apikalen Pol. Tubuläre Mitochondrien folgen den länglichen Kernen dicht unter die Membran der Mikrogamonten. Sie liegen den Chromatinverdichtungen eng an und werden oft in einer Einkerbung der Kerne gefunden. MEHLHORN und HEYDORN (1979) sowie BECKER, MEHLHORN und HEYDORN (1979) beobachteten diese Gegebenheit bei S. suihominis in Zellkulturen ebenfalls. In den länglichen Kernen trennt sich der Teil, der das verdichtete Chromatin des späteren Mikrogameten enthält, von dem elektronenlichten Teil. Der kondensierte Chromatinanteil kommt unter die Mikrogamontenpellikula zu liegen und wölbt diese in die parasitophore Vakuole vor. Anschließend schnürt sich der Mikrogametenkern ganz vom Mikrogamonten ab. Der elektronenlichte Kernanteil bleibt im Mikrogamonten neben Polysaccharid-Grana und Zytoplasmaresten zurück und löst sich auf.

Neben reifen Mikrogameten mit ihren Geißelanschnitten finden sich in der parasitophoren Vakuole Ausstülpungen des Mikrogamontenzytoplasmas und granuläres Material. Diese Zytoplasmabläschen fanden SPEER und DANFORTH (1976) bei Eimeria magna sowie VETTERLING, PACHECO und FAYER

bei einer Sarcocystisart des Stares ebenfalls. Daß FAYER (1974) in seinen lichtmikroskopischen Studien zu S. fusiformis sowie SCHÄFFLER (1979) und ENTZEROTH (1980) in ihren Untersuchungen über S. suicanis bzw. eine Sarcocystisspezies des Rehes keine Mikrogamonten fanden, liegt wahrscheinlich daran, daß sie den kurzen Zeitraum, in dem diese Formen auftreten, verpaßten.

Die in einer parasitophoren Vakuole liegenden, 10,9 x 9,3 µm großen Makrogamonten von S. muris werden 10, bzw. 12 Stunden p.i. in Becherzellen gefunden. Ihre Pellikula besteht aus 2 Membranen, deren innere unterbrochen ist und von dem inneren Blatt der Doppelmembran der Zystozoiten gebildet wird.

VETTERLING, PACHECO und FAYER (1973), MEHLHORN und HEYDORN (1979) sowie BECKER, MEHLHORN und HEYDORN (1979) beobachteten bei verschiedenen anderen Sarcocystisarten in Zellkulturen ebenfalls 2 Membranen, während SCHOLTYSECK und HILALI (1978) für S. fusiformis und ENTZEROTH (1980) für eine Sarcocystisspezies des Rehes 3 Schichten beschrieben.

Neben dem sehr gut ausgeprägten ER mit seinen oft sehr weiten Spalträumen stellt der große, zentral gelegene Kern, der als typisch für Kokzidien-Makrogamonten gilt, das prominente Zellorganell dar. Neben dem Kern liegt in vielen Fällen ein ovoider Körper, der von einer dicken Hülle umgeben ist. Dieser enthält eventuell Kernmaterial. Direkt neben den Polen des zentralen Kernes liegen 2 osmiophile zentriolenähnliche Verdichtungen, von denen intranukleäre Fibrillen in den Kern einstrahlen. Die Bedeutung dieser Strukturen ist mir unklar geblieben.

GALLUCI (1974) entdeckte während der Makrogametogenese von Haemoproteus columbae ähnliche Strukturen. Sie deutet die osmiophilen Kondensationen als Zentriolen und bezeichnet den ovalen Körper als "maturation body", der sich als Produkt einer nukleären Reduktion von dem Kern abtrennt. Nach Meinung der Autorin könnte der Bildung dieses Maturationskörpers eine Meiose vorausgehen. WHEAT und Mitarbeiter (1976) finden in Makrogamonten von Eimeria mivati sogenannte "nuclear detachment bodies" nahe des Kernes. Die Autoren sind der Meinung, daß diese Körper von dem Kern abgeschnürt werden, machen jedoch keine weiteren Angaben zu diesen Körpern.

Vereinzelte Lipideinschlüsse und zahlreiche Polysaccharid-Grana dienen als Reservestoffe. FAYER und THOMPSON (1975) wiesen letztere als PAS-positive Grana nach. RYLEY und Mitarbeiter (1969) identifizierten den Inhalt der ovalen Grana als Amylopektin.

An einem Pol zahlreicher Makrogameten konnten in vorliegenden Untersuchungen 12 und 18 Stunden p.i. Anlagerungen von Mikrogameten beobachtet werden. Im Lichtmikroskop stellen sich die angelagerten männlichen Gameten als bis zu 3,4 µm große, oft kommaförmige Körper dar. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen zeigten, daß diese Formen zwischen der inneren und der äußeren Membran der parasitophoren Vakuole liegen. Hier fanden auch SCHÄFFLER (1979) sowie SHEFFIELD und FAYER (1980) die Mikrogameten von S. suicanis bzw. S. bovicanis. Dieselbe Lokalisation zeigten auch die von ENTZEROTH (1980) gefundenen "zytoplasmatischen Gebilde".

Bestandteile des von einer Membran umgebenen Mikroga-

meten von S. muris sind tubuläre Mitochondrienstrukturen, osmiophile Kernverdichtungen und Mikrotubuli. Denselben Aufbau geben auch die oben genannten Autoren an. In meinen Untersuchungen werden jedoch auch Formen beobachtet, die in einer von einer Membran gebildeten, elektronenlichten Blase nur eine osmiophile Verdichtungszone aufweisen. Geißeln wurden nicht gesehen. Ob diese beim Eindringen in den Makrogameten abgeworfen werden oder ob sie nur nicht angeschnitten sind, bleibt noch zu klären.

In frühen Befruchtungsstadien besteht keine Verbindung zwischen den beiden Gameten. Alle Membranen zwischen diesen sind noch intakt. Beidseitig dieser Membranen liegen manchmal osmiophile Verdichtungen an. Das ER des Makrogameten erscheint dilatiert und reicht bis an diesen Bezirk heran, während die Pellikula des Makrogameten über eine weite Strecke unterbrochen ist. Durch diese Öffnung erstreckt sich ER des Makrogameten in die parasitophore Vakuole. Auch osmiophile Verdichtungen werden hier angetroffen.

SHEFFIELD und FAYER (1980) beobachteten einen Übergang von Mikrogameten-Nukleoplasma in den Makrogameten durch einen schmalen, von osmiophilen Verdichtungen begrenzten Spalt in den Gametenmembranen. Auch GÖBEL und SCHÄFFLER (persönliche Mitteilung) konnten bei S. suicanis eine Verbindung zwischen den Gameten zeigen. Eine Öffnung in der Pellikula des Mikrogameten wurde in dieser Untersuchung nicht entdeckt.

Aufgrund des oben angeführten Verhaltens des Makrogameten-ER erscheint es sehr wahrscheinlich, daß die-

sem eine entscheidende Bedeutung bei der Befruchtung zukommt. Da der Mikrogamet nicht in toto in den weiblichen Gameten eindringt, läuft der Transport des osmiophilen, männlichen Nukleoplasmas in den weiblichen Gameten offenbar über das ER des Makrogameten. Die Mikrogameten von Haemoproteus columbae (GALLUCI, 1974) und von Parahaemoproteus velans (DESSER, 1972) dringen im Gegensatz hierzu auch mit den Geißeln in den Makrogameten ein. Der Mikrogametenkern wandert zum weiblichen Kern und verschmilzt mit diesem. MADDEN und VETTERLING (1977) zeigten einen Mikrogameten von Eimeria tenella, der mit dem ganzen Körper und seinen Geißeln in den Makrogameten eindringt. Hier könnte man interpretieren, daß der Mikrogamet gerade die äußere Membran der parasitophoren Vakuole durchdringt.

Die geschlechtliche Entwicklung von S. muris läuft, wie in dieser Untersuchung bestätigt werden konnte, über Gameten; folglich handelt es sich um eine Gametogamie.

Nach Abschluß der Befruchtung, 18 Stunden p.i., treten die ersten Zygoten auf. Der Pellikulaaufbau der Zygoten von S. muris entspricht dem der Makrogameten. Jedoch legt sich die Pellikula bei den Zygoten in Falten, an deren Grund sie nicht mehr intakt erscheint. Nahe an diese Stellen tritt das ER, welches auch in der parasitophoren Vakuole gefunden wird. Die bei jungen Makrogamonten mit Ribosomen besetzte Membran M_1, die von der Wirtszelle gebildet wird, erfährt im Verlaufe der Entwicklung bis zur Zygote eine weitere Verdichtung. Unter der äußersten Schicht M_1

tritt erstmals bei den Zygoten die Membran M_2 auf, an welcher ebenfalls verdichtete Substanz beobachtet wird.

Weder bei Makrogamonten und Makrogameten noch bei Zygoten von S. muris werden Hüllbildungskörper beobachtet, wie sie für Eimerien-Makrogameten von SCHOLTYSECK, GÖNNERT und HABERKORN (1969) sowie von SCHOLTYSECK, ROMMEL und HELLER (1969) und für Makrogameten von Toxoplasma gondii (SCHOLTYSECK, MEHLHORN und HAMMOND, 1971) beschrieben wurden. Auch SCHÄFFLER (1979) und ENTZEROTH (1980) konnten keine Hüllbildungskörper bei ihren Untersuchungen nachweisen. Für weitere Sarcocystisarten beschrieben VETTERLING, PACHECO und FAYER (1973) sowie ZAMAN und COLLEY (1975) einen, SCHOLTYSECK und HILALI (1978), MEHLHORN und HEYDORN (1979) sowie BECKER, MEHLHORN und HEYDORN (1979) 2 Typen von Hüllbildungskörpern.

Das ER der weiblichen Gameten von S. muris enthält oft verdichtete Substanz, die dem Inhalt von Hüllbildungskörpern des II. Typs ähnelt. COLLEY (1967) zeigte, daß auch die Hüllbildungskörper von Eimeria nieschulzi-Makrogameten in den Lakunen des ER gebildet werden. Da neben granulärem Material auch ER in der parasitophoren Vakuole der Zygoten angetroffen wird, liegt nahe, daß es eine wichtige Rolle bei der Hüllbildung von S. muris spielt. Auch ENTZEROTH (1980) sieht einen Spaltraum, in den Grana und Vesikel einwandern und dort eine granuläre Zone bilden, welche sich im weiteren Verlaufe der Oozystenentwicklung verdichtet. Bei S. muris tritt in späteren Stadien an dieser Stelle zwischen Pellikula und M_4 eine Ver-

dichtungszone auf, während ER nicht mehr zu sehen ist. Das Blatt M_4 wird während der Makrogametenentwicklung zugebildet, da es bei jungen Makrogamonten nicht oder nur als helle, undeutliche Schicht auftritt. Die Zygote verfügt also über insgesamt 6 Hüllschichten (IM, OM und M_{1-4}). Die neugebildeten Schichten werden nicht unter der inneren Membran (IM) des Parasiten zugebildet. M_4 samt der verdichteten Schicht wird in der ehemaligen parasitophoren Vakuole unter M_3 gebildet. M_2 wird unter der äußeren Schicht M_1 formiert. Ob und inwieweit die Befruchtungsvorgänge eine Rolle bei der Hüllbildung spielen, konnte nicht geklärt werden.

Die Hülle der Oozysten von S. muris besteht am 3. Tag p.i. aus 6 Schichten. ZAMAN und COLLEY (1975) geben für Oozysten von S. singaporensis 5, VETTERLING, PACHECO und FAYER (1973) für eine Sarcocystisspezies vom Star 7 Schichten an; letztere Autoren zeigen allerdings auf, daß einige dieser Schichten später verschmelzen. So darf auch für S. muris angenommen werden, daß bis zur vollständigen Ausbildung der Oozystenwand die verschiedenen Schichten noch umgebaut werden.

Während der Entwicklung der Makrogameten von S. muris zu Zygoten erweitern sich die Spalträume des ER derart, daß sie bei den Zygoten große,vakuolenartige Hohlräume bilden, die deren Zytoplasma auf sehr schmale Bänder komprimieren. Weitere dominierende Strukturen stellen auch die Mitochondrien dar, während bei den Oozysten neben den großen Vakuolen vor allem Polysaccharid-Grana und einige Lipideinschlüsse auffallen. VETTERLING, PACHECO und FAYER (1973), ZAMAN und COLLEY (1975) und ENTZEROTH (1980) beobachteten in diesen Sta-

dien ebenfalls Vakuolen und Polysaccharideinschlüsse.

Die Größe der Oozysten von S. muris beträgt 3 Tage p.i. 15,2 x 10,8 µm. SCHÄFFLER (1979) gibt für S. suicanis 6 Tage p.i. eine Größe von 15,4 x 13,6 µm an. ZAMAN und COLLEY (1975) nennen für S. singaporensis 15,4 x 11,2 µm.

Als Größe der Sporozysten von S. muris wurde in dieser Untersuchung 11,3 x 9,5 µm gemessen, während RUIZ und FRENKEL (1976) für denselben Parasiten 10,3 x 8,5 µm angeben. SCHÄFFLER (1979) mißt an S. suicanis-Sporozysten 13,6 x 9,1 µm, MARKUS, KILLICK-KENDRICK und GARNHAM (1974) an S. fusiformis-Sporozysten 12,9 x 8,7 µm.

Die festgestellte Dicke und der Aufbau der Oozystenhülle hängt somit möglicherweise nicht nur von Speziesunterschieden, sondern auch vom Zeitpunkt der Untersuchung ab.

V. Zusammenfassung

An 8 kokzidienfreien, experimentell mit stark zystenhaltiger Mäusemuskulatur infizierten Katzen wurden Untersuchungen zur intestinalen Entwicklung von Sarcocystis muris durchgeführt.

Zystozoiten dringen 6 Stunden p.i. in die Becherzellen von Jejunum und Ileum ein. Hier differenzieren sich 12 Stunden p.i. Mikro- und Makrogamonten aus. Zwischen 12 und 18 Stunden p.i. treten gehäuft Makrogameten mit Mikrogametenanlagerungen an einem Pol auf. Zygoten liegen extrazellulär zwischen Epithel und Lamina propria. Unsporulierte und sporulierende Oozysten werden 3 Tage p.i. gefunden. Am 12. Tage p.i. lassen sich Sporozysten nachweisen.

In ultrastrukturellen Untersuchungen konnte der typische apikale Komplex der Zystozoiten dargestellt werden. Intrazelluläre Formen sind von einer parasitophoren Vakuole umgeben. In einem Mikrogamonten bilden sich durch Lappung des Kernes bis zu 16 Mikrogameten, welche über einen Kern, ein Mitochondrium vom Tubulustyp, ein Perforatorium, Basalplatten und Geißeln verfügen. Während der Befruchtung liegt ein Mikrogamet zwischen den verdichteten Membranen der parasitophoren Vakuole an einem Makrogametenpol an. Durch die Pellikula des Makrogameten, die in diesem Stadium über eine weite Strecke unterbrochen ist, tritt ER des Makrogameten in die parasitophore Vakuole. Nach Verstärkung der Hüllschichten liegen bei den Zygoten 4 Schichten (M_{1-4}) über der Pellikula. Die Oozystenhülle besteht aus 6 Schichten (M_{1-6}).

Hellwig, M.: Light and electron microscopic studies on the life cycle of Sarcocystis muris (Sporozoa, Coccidia) in the cat

Summary

In 8 coccidia-free cats, experimentally infected with high numbers of tissue cysts from the skeletal muscles of mice, the intestinal development of Sarcocystis muris was studied.

Merozoites penetrated the goblet cells of jejunum and ileum 6 hr p.i.. In these cells macro- and microgamonts differentiated at 12 hr p.i.. Between 12 and 18 hr p.i. macrogametes often appeared with polar caps of microgametes. The zygotes then lay extracellularly between the epithelium and the lamina propria. Unsporulated and sporulating oocysts were found 3 days p.i.. Sporocysts were detected at the 12 th day p.i..

In ultrastructural investigations the apical complex of the merozoites was observed. Intracellular stages were contained within a parasitophorous vacuole. By lobulation of the nucleus, up to 16 microgametes were formed. Each contained a nucleus, a tubular mitochondrium, a perforatorium, basal bodies and flagella. During fertilization one microgamete lay between the thickened membranes of the parasitophorous vacuole at one pole of the macrogamete. Endoplasmic reticulum from the macrogamete then passed into the parasitophorous vacuole through the pellicle of the macrogamete which then appeared broken. The zygote wall was observed to be consisted of 4 layers (M_{1-4}) covering the pellicle. The oocyst wall then formed consisted of 6 layers (M_{1-6}).

VI. Literaturverzeichnis

1. Becker, B., Mehlhorn, H., Heydorn, A.O. (1979): Light and electron microscopic studies on gamogony and sporogony of 5 Sarcocystis species in vivo and in tissue cultures. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 244, 394-404

2. Brehm, H. (1979): Untersuchungen über die Entwicklung von Sarcocystis singaporensis Zaman und Colley, 1976 in der Ratte (Rattus norvegicus Berkenhout, 1969) und in der Netzpython (Python reticularis Schneider, 1801). Vet. med. Diss., München 1979

3. Colley, F.C. (1967): Fine structure of microgametocytes and macrogametes of Eimeria nieschulzi. J. Protozool. 14, 663-674

4. Desser, S.S. (1972): Gametocyte maturation, exflagellation and fertilisation in Parahaemoproteus (= Haemoproteus) velans (Coatney and Roudabush) (Haemosporidia: Haemoproteidae): an ultrastructural study. J. Protozool. 19, 287-296

5. Entzeroth, P.R. (1980): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zum Lebenszyklus von Sarcocystis sp. (Sporozoa, Coccidia) im Reh (Capreolus capreolus) und Hund (Canis familiaris). Rer. nat. Diss., Bonn 1980

6. Fayer, R. (1970): Sarcocystis: Development in cultured avian and mammalian cells. Science 168, 1104-1105

7. Fayer, R. (1972): Gametogony of Sarcocystis sp. in cell culture. Science 175, 65-67

8. Fayer, R. (1974): Development of Sarcocystis fusiformis in the small intestine of the dog. J. Parasit. 60, 660-665

9. Fayer, R., Johnson, A.J. (1975): Sarcocystis fusiformis infection in the coyote (Canis latrans). J. infect. Dis. 131, 189-192

10. Fayer, R., Thompson, D.E. (1975): Cytochemical and cytological observations on Sarcocystis sp. propagated in cell culture.
J. Parasit. 61, 466-475

11. Fleischmann, B. (1977): Elektronenmikroskopischer Beitrag zum Wirt-Parasit-Verhältnis des Coccids Klossia helicina (Coccidia, Adeleidea).
Rer. nat. Diss., Bonn 1977

12. Galluci, B.B. (1974): Fine structure of Haemoproteus columbae Kruse during macrogametogenesis and fertilisation.
J. Protozool. 21, 254-263

13. Gass, H. (1972): Seuchen- und parasitologische Probleme beim Kauf von Kleintieren aus dem Tierhandel.
Prakt. Tierarzt 53, 513-516

14. Hammond, D.M., Scholtyseck, E., Chobotar, B. (1969): Fine structural study of microgametogenesis of Eimeria auburnensis.
Z. Parasitenkd. 33, 65-84

15. Heydorn, A.O., Rommel, M. (1972): Beitäge zum Lebenszyklus der Sarkosporidien. IV. Entwicklungsstadien von Sarcocystis fusiformis in der Dünndarmschleimhaut der Katze.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 85, 333- 336

16. Madden, P.A., Vetterling, J.M.,(1977): Scanning electron microscopy of Eimeria tenella microgametogenesis and fertilisation.
J. Parasit. 63, 607-610

17. Markus, M.B., Killick- Kendrick, R., Garnham, P.C.C. (1974): The coccidial nature and life-cycle of Sarcocystis.
J. Trop. med. Hyg. 77, 249-259

18. Mehlhorn, H., Heydorn, A.O. (1979): Electron microscopical study on gamogony of Sarcocystis suihominis in human tissue cultures.
Z. Parasitenkd. 58, 97-113

19. Mehlhorn, H., Scholtyseck, E. (1974): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Entwicklungsstadien von Sarcocystis tenella aus der Darmwand der Hauskatze. I. Die Oocysten und Sporocysten.
Z. Parasitenkd. 43, 251-270

20. Munday, B.L., Barker, I.K., Rickard, M.D. (1975): The developmental cycle of a specis of Sarcocystis occuring in dogs and sheep, with observations on pathogenity in the intermediate host.
Z. Parasitenkd. 46, 111-123

21. Reynolds, E. (1963): The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy.
J. Cell. Biol. 17, 208-212

22. Ruiz, A., Frenkel, J.K. (1976): Recognition of cyclic transmission of Sarcocystis muris by cats.
J. Infect. Dis. 133, 409-418

23. Ryley, J.F., Bentley, M., Manners, D.J., Stark, J.R. (1969): Amylopectin, the storage polysaccharide of the coccidia Eimeria brunetti and E. tenella.
J. Parasit. 55, 839-845

24. Schäffler, M. (1979): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Gamogonie und Sporogonie von Sarcocystis suicanis im Dünndarm experimentell infizierter Hunde.
Vet. med. Diss., München 1979

25. Scholtyseck, E., Gönnert, R., Haberkorn, A. (1969): Die Feinstruktur der Makrogameten des Hühnercoccids Eimeria tenella.
Z. Parasitenkd. 33, 31-43

26. Scholtyseck, E., Rommel, A., Heller, G. (1969): Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Bildung der Oocystenhülle bei Eimerien. (E. perforans, E. stidae, E. tenella).
Z. Parasitenkd. 31, 289-298

27. Scholtyseck, E., Mehlhorn, H., Hammond, D.M. (1971): Fine structure of macrogametes and oocysts of coccidia and related organisms.
Z. Parasitenkd. 37, 1-43

28. Scholtyseck, E., Mehlhorn, H., Hammond, D.M. (1972): Electron microscope studies of microgametogenesis in coccidia and related organisms.
Z. Parasitenkd. 38, 95-131

29. Scholtyseck, E., Hilali, M. (1978): Ultrastructural study of the sexual stages of Sarcocystis fusiformis (Railliet 1897) in domestic cats. Z. Parasitenkd. 56, 205-209

30. Sheffield, H.G., Fayer, R. (1980): Fertilisation in the coccidia: Fusion of Sarcocystis bovicanis gametes. Proc. Helminth. Soc. Wash. 47, 118-121

31. Speer, C.A., Danforth, H.D. (1976): Fine-structural aspects of microgametogenesis of Eimeria magna in rabbits and in kidney cell cultures.. J. Protozool. 23, 109-115

32. Tadros, W., Laarman, J.J. (1979): Some observations on the gametogony development of Sarcocystis cuniculi of the common european rabbit in a feline fibroblast cell line. Acta Leidensia 47, 45-52

33. Vetterling, J.M., Pacheo, N.D., Fayer, R. (1973): Fine structure of gametogony and oocyst formation in Sarcocystis sp. in cell culture. J. Protozool. 20, 613-621

34. Wheat, B.E., Jensen,J.B., Ernst, J.V., Chobotar, B., (1976): Ultrastructure of macrogametogenesis of Eimeria mivati. Z. Parasitenkd. 50, 125-136

35. Zaman, V., Colley, F.C. (1975): Light and electron microscopic observations of the life cycle of Sarcocystis orientalis sp. n. in the rat (Rattus norvegicus) and the Malaysian reticulated python (Python reticularis). Z. Parasitenkd. 47, 169-185

36. Zaman, V., Colley, F.C. (1976): Replacement of Sarcocystis orientalis Zaman and Colley, 1975 by Sarcocystis singaporensis sp. n.. Z. Parasitenkd. 51, 137

Herrn Professor Dr. Dr. h.c. J. Boch danke ich
für die freundliche Überlassung des Themas und
die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Herrn Dr. E. Göbel gilt mein besonderer Dank
für die wertvollen Ratschläge und die Anleitung
zu meiner Arbeit.

Frau H. Meyer möchte ich recht herzlich für
die technische Unterstützung danken.

Lebenslauf

Name:	Michael Hellwig	
geboren am:	19.10.52	
in:	Dachau	
Eltern:	Ernst Hellwig	
	Anna Hellwig, geb. Nottensteiner	
Schulbildung:	1959-1963	Volksschule Dachau-Süd
	1963-1966	Humanistisches Gymnasium Scheyern
	1966-1972	Wittelsbacher Gymnasium München
	1972	Zeugnis der Reife
Zivildienst:	1972-1974	
Studium:	1974	Geologie und Forstwissenschaften an der Ludwig-Maximilians-Universität München
	1974-1979	Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
	Nov. 1979	Staatsexamen
	Jan. 1980	Approbation als Tierarzt
	1979-1980	Dissertationsarbeit am Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie der Universität München